FACULTÉ MIXTE
DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N° 1

THÈSE

présentée et publiquement soutenue
devant la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Marseille
le 27 Juin 1960
PAR

Fernand GOUEZO

Pharmacien, Prix des Professeurs 1950
Licencié ès-Sciences, Ex-interne des Hôpitaux de Marseille
Diplômé de Sérologie par la Faculté de Médecine de Paris
né le 21 Mars 1926 à Marseille

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR D'ETAT EN PHARMACIE

CARACTÉRISATION et DOSAGE DE L'ARSENIC ET DE L'ANTIMOINE par POLAROGRAPHIE

APPLICATION A LA TOXICOLOGIE

Sujet proposé par la Faculté :

LES ISOTOPES RADIOACTIFS DE L'ARSENIC
Leur intérêt dans les domaines de la Biologie et de la Toxicologie

Examinateurs : MM. VIGNOLI *Président*, DUBOULOZ, MOURGUE *Assesseurs*, CRISTAU

1960

CARACTÉRISATION et DOSAGE DE L'ARSENIC ET DE L'ANTIMOINE par POLAROGRAPHIE

APPLICATION A LA TOXICOLOGIE

Sujet proposé par la Faculté :

LES ISOTOPES RADIOACTIFS DE L'ARSENIC

Leur intérêt dans les domaines de la Biologie et de la Toxicologie

FACULTÉ MIXTE
DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N°

THÈSE

présentée et publiquement soutenue
devant la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Marseille
le 27 Juin 1960

PAR

Fernand GOUEZO

Pharmacien, Prix des Professeurs 1950
Licencié ès-Sciences, Ex-interne des Hôpitaux de Marseille
Diplômé de Sérologie par la Faculté de Médecine de Paris

né le 21 Mars 1926 à Marseille

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR D'ETAT EN PHARMACIE

CARACTÉRISATION et DOSAGE DE L'ARSENIC ET DE L'ANTIMOINE par POLAROGRAPHIE

APPLICATION A LA TOXICOLOGIE

Sujet proposé par la Faculté :

LES ISOTOPES RADIOACTIFS DE L'ARSENIC
Leur intérêt dans les domaines de la Biologie et de la Toxicologie

Examinateurs

MM. VIGNOLI *Président*
DUBOULOZ
MOURGUE *Assesseurs*
CRISTAU

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

PERSONNEL ADMINISTRATIF

Doyen : G. MORIN — Assesseur : J. DELPHAUT
Secrétaire Principal : P. MOUCHET
Secrétaire Principal honoraire : J. COMTE
Bibliothécaire : M^lle PERRIN

PERSONNEL ENSEIGNANT

Professeurs honoraires :

MM. AUDIBERT, BELTRAMI, BREMOND, CHAUVIN, GABRIEL, JOYEUX, MOIROUD, MONGES, RIMATTEI, ROCHE.

PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	GRISOLI
Anatomie Appliquée et de Chirurgie Expérimentale	HENRY
Anatomie Pathologique	GASTAUT
Bactériologie et Pathologie générale	BRAHIC
Botanique et Crytogamie	PELLISIER
Cardiologie Clinique et Expérimentale	JOUVE
Chimie	DUMAZERT
Chimie Analytique	ARNOUX
Chimie Minérale	MOURGUE
Chimie Médicale	DERRIEN
Clinique Chirurgicale	CARCASSONNE
Clinique Chirurgicale	LAMY
Clinique Chirurgicale	DE VERNEJOUL
Clinique Chirurgicale Infantile et Orthopédique	SALMON
Clinique de Chirurgie Thoracique	DOR
Clinique d'Endocrinologie	VAGUE
Clinique Exotique	BLANC
Clinique des Maladies du Système Nerveux	CREMIEUX
Clinique Médicale	MATTEI
Clinique Médicale	POINSO
Clinique Médicale Thérapeutique	OLMER
Clinique des Mal. des Voies Digest. et de la Nutrition	RECORDIER
Clinique Médicale Infantile	GIRAUD
Clinique Neuro-Chirurgicale	PAILLAS
Clinique Obstétricale et Gynécologique	CHOSSON
Clinique Ophtalmologique	JAYLE
Clinique Oto-Rhino-Laryngologique	APPAIX
Clinique de Stomatologie	MARONNEAUD
Clinique d'Urologie	N...
Histologie	PICARD
Hygiène et Médecine Sociale	SAUTET
Matière Médicale	BALANSARD
Médecine Expérimentale	DONNET

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Médecine Légale et Médecine du Travail	MOSINGER
Parasitologie	RANQUE
Pathologie Chirurgicale	LENA
Pathologie Interne	AUDIER
Pharmacologie	MERCIER F.
Pharmacie Chimique et Toxicologie	VIGNOLI
Pharmacie Galénique	DELPHAUT
Physiologie	MORIN
Physiopathologie des Voies Respiratoires	LAVAL
Physique Médicale	DUBOULOZ
Thérapeutique	PIERI

Professeurs sans chaire

MM. ROUX — MM. GREBUS
MERCIER J. — LISSITZKY S.

Maîtres de conférences agrégés

MM. BERNARD P.
BOURRET
CORRIOL
CRISTAU
DEPIEDS
DESANTI

MM. GAMBARELLI
GEVAUDAN
PASTOR
PAYAN
STAHL
TAMALET

Agrégés en exercice

MM. BERARD
BERNRAD R.
BONNAL
CHARPIN
CHAUVIN
COMITI
DALMAS
DEVIN
FARNARIER

MM. GERARD
LEGRE
MOUREN
ORSINI
REBOUD
SARLES
SERMENT
SIMONIN
TEMINE
TRIFAUD

Agrégés libres

MM. BERTHIER
FIGARELLA
GRANJON
IMBERT
MONGES H.

MM. OLLIVIER
OURGAUD
PAOLI
RAYBAUD

Chargé des fonctions de Maître de Conférence

Physiologie	M. ZWIRN

Chargés des fonctions d'agrégé

	MM.
Clinique des Maladies du Système Nerveux	BOUDOURESQUE
Clinique de Stomatologie	LACHARD
Médecine Légale	GRAS

A MA FEMME

A MES ENFANTS

À NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur VIGNOLI

Officier de la Légion d'honneur
Professeur de Pharmacie Chimique et de Toxicologie
Président du Conseil Régional de l'Ordre des Pharmaciens

Qu'il veuille bien trouver dans ce travail l'expression de notre profonde gratitude et de toute notre reconnaissance.

Alors que nous étions dans une période de dépression profonde, il nous a proposé ce travail qui nous a arraché à la monotonie de l'officine.

L'étude toxicologique de l'arsenic et de l'antimoine, tant au point de vue chimique qu'au point de vue biologique, fait partie des traditions de son laboratoire. Plusieurs thèses (PLUCHON, FAUCHON, CRISTAU) ont été effectuées sur ces vieux toxiques toujours d'actualité, et le Professeur VIGNOLI lui-même a reçu la consécration de l'Académie de Pharmacie pour ses travaux sur l'arsenic.

Il fut notre guide dans la réalisation de ce travail, nous donnant à chaque tournant de l'expérimentation, l'orientation nécessaire. C'est lui qui nous a tracé la voie dans le dur chemin de la recherche.

Il restera, s'il le veut bien, notre guide et notre maître dans la poursuite de notre carrière scientifique.

A Monsieur le Professeur DUBOULOZ

Professeur de Physique Médicale
Radiologue des Hôpitaux

qui, le premier, nous a accueilli dans son laboratoire lorsque nous étions étudiant et nous a permis de faire nos premiers pas dans la pratique de l'expérimentation chimique.

Il a bien voulu nous juger, nous lui exprimons nos remerciements respectueux pour l'honneur qu'il nous fait.

À Monsieur le Professeur MOURGUE

Professeur de Chimie Minérale

Il incarne notre premier et fructueux contact avec la Faculté de Pharmacie. Le hasard a voulu qu'il fît le cours inaugural lorsque nous commençâmes notre première année.

Il nous fait l'honneur de siéger à notre jury, nous lui exprimons notre vive reconnaissance.

À Bernard CRISTAU

Professeur Agrégé de Pharmacie Chimique et de Toxicologie

notre ancien condisciple avec lequel nous avons partagé, voici dix ans, le Prix des Professeurs.

Sa présence constante à nos côtés, ses conseils et ses encouragements durant toute la durée de ce travail ont été pour nous les meilleurs stimulants et c'est en symbiose totale avec lui que nous avons réalisé cette thèse, prolongement logique de sa propre thèse de Sciences.

Il fait partie de notre jury et, comme professeur, jugera en nous son premier disciple. Les remerciements entre nous sont inutiles. Qu'il trouve, ici, l'expression de notre profonde amitié.

AVANT-PROPOS

Les empoisonnements criminels par les dérivés arsenicaux sont devenus de plus en plus rares. Ce poison n'est plus guère en honneur, même à la campagne où, pourtant, les insecticides arsenicaux sont à la portée de chacun. Cette décroissance d'une faveur bien méritée autrefois, vu la facilité et l'absence de contrôle avec lesquelles il était possible de se procurer ces toxiques, semble due à une instruction plus poussée et à une diffusion plus grande des connaissances dans les campagnes. Le criminel en puissance possède l'évolution nécessaire pour penser que son forfait ne pourrait rester impuni.

Mais un récent procès a montré néanmoins qu'il était quelquefois difficile à l'expert de faire triompher sa certitude à l'aide des résultats obtenus avec les méthodes d'expertise toxicologique actuellement en vigueur, en face d'une argumentation juridique solidement établie sur des bases scientifiques.

L'intoxication accidentelle individuelle par méprise ou collective provenant d'une erreur dans la préparation d'un médicament est malheureusement toujours possible ; la preuve en est fournie par une affaire récente : plusieurs jeunes enfants trouvèrent la mort par application sur la peau d'un produit d'hygiène contenant de l'anhydride arsénieux.

Enfin, les développements de l'industrie chimique et les procédés modernes de traitement des arbres fruitiers (pulvérisations de produits toxiques) rendent les intoxications chroniques de plus en plus fréquentes chez les ouvriers ou les agriculteurs manipulant les composés arsenicaux. Et cet arsenicisme chronique, outre les troubles classiquement décrits, interviendrait dans la genèse de certains cancers (*).

C'est pourquoi nous pensons que la toxicologie doit s'orienter vers des méthodes permettant l'identification certaine de très petites doses d'arsenic (particulièrement sa distinction avec l'antimoine) et leur dosage avec une précision suffisante pour donner la possibilité de conclure avec certitude si les quantités retrouvées ont pu provoquer la mort ou les désordres constatés.

(*) TRUHAUT (R.) in *Mises au point de Chimie analytique pure et appliquée et d'analyse bromatologique.* Masson et Cie éd., Paris, 4e série, p. 417.

INTRODUCTION

Les méthodes classiques d'identification et de dosage des toxiques minéraux et organiques semblent procéder souvent plus de l'empirisme que de bases théoriques. Tel est le cas, en particulier, de l'arsenic et de l'antimoine.

Pour le premier, la transformation en hydrure volatil et sa réaction avec un papier mercurique sont pratiquées dans de nombreux laboratoires en utilisant toujours intégralement le procédé que mit au point Cribier en 1921. Cependant, Griffon et Buisson, puis Jaulmes et Rivemale montrèrent par l'expérience et la théorie sa médiocre précision. Leurs conclusions laissaient prévoir qu'il était possible d'améliorer considérablement ce procédé extrêmement sensible, mais peu d'expérimentateurs se sont attachés après eux à mettre au point des méthodes tenant compte de leurs résultats. Enfin, de l'aveu de Cribier lui-même, son procédé n'est pas d'une spécificité absolue.

D'autre part, le silence total des auteurs français sur les méthodes anglo-saxonnes de principe analogue mais utilisant des réactifs différents, et réciproquement, n'a pas été sans nous étonner. Et pourtant l'étude comparative de ces divers procédés ne pourrait-elle pas faire progresser la question si controversée de l'identification et du dosage de l'arsenic ?

Pour l'antimoine, les toxicologues français, constatant que sa distillation sous forme d'hydrogène antimonié n'était pas quantitative en effectuant l'opération par action de l'acide sulfurique sur le zinc, avaient rejeté simplement tout procédé de ce genre. Mais n'était-il pas possible d'obtenir un dégagement quantitatif en modifiant les conditions de cette génération ?

Essayant de mettre à profit les expérimentations et conclusions théoriques précitées et étudiant les avantages et inconvénients des méthodes étrangères comparées au procédé français, nous avons voulu mettre au point une ou plusieurs méthodes permettant d'identifier avec certitude et de doser avec une précision suffisante ces deux métalloïdes. La méthode physique de polarographie, après étude des résultats obtenus par nos prédécesseurs dans cette voie, nous a paru être l'instrument de choix pour l'identification et le dosage de l'arsenic et de l'antimoine retenus par un support réactif après distillation des hydrures. Assurant une spécificité rigoureuse, elle est d'une précision au moins égale à celle obtenue par les procédés réalisant la meilleure reproductibilité, tels la spectrophotométrie ou la radioactivité provoquée, et sa sensibilité est compatible avec les besoins normaux de l'expertise toxicologique.

Enfin, nous avons voulu sonder le champ d'action de cette méthode moderne, et pour cela l'avons appliquée à titre d'exemple à l'identification et au dosage de l'arsenic insolubilisé par le procédé de Bougault.

CHAPITRE I

PRINCIPALES METHODES UTILISANT POUR LE DOSAGE DE L'ARSENIC LA REDUCTION EN HYDRURE VOLATIL ET LA COMBINAISON DE CE GAZ A UN REACTIF

Section I

GENERALITES

Ces très nombreuses méthodes réalisent toutes la formation d'hydrogène arsénié à partir de dérivés minéraux électropositifs, grâce à leur réduction par l'hydrogène naissant : dans ces dérivés l'arsenic peut être à la valence + 5 :

$$As^{+5} + 8\ H \rightarrow As^{-3} + 8\ H^{+}$$

ou à la valence + 3 :

$$As^{+3} + 6\ H \rightarrow As^{-3} + 6\ H^{+}$$

L'hydrure d'arsenic gazeux AsH_3 produit, entraîné par le courant d'hydrogène, peut être dissocié thermiquement et l'arsenic métalloïdique formé se dépose plus loin sur la partie froide du tube à dégagement dans lequel on effectue la dissociation ; cette façon de procéder est utilisée dans la méthode de Marsh et ses nombreuses modifications [61] ; ces méthodes ne faisant pas l'objet de ce travail, nous ne les étudierons pas plus avant.

Dans d'autres techniques, AsH_3 amené au contact d'un papier ou support réactif, le plus souvent imprégné préalablement de sels d'argent ou de mercure et séché, se fixe sur ces supports, une coloration apparaît et l'on compare la longueur ou l'intensité de coloration de la tache formée à celle d'une gamme-étalon.

Quelquefois, enfin, l'hydrogène arsénié est dirigé dans un réactif doué de propriétés oxydantes à son égard ; le dosage se termine alors par voie chimique classique ou par colorimétrie si le composé arsenical formé produit un complexe coloré avec le réactif.

L'hydrogène naissant, agent de la réduction, peut être obtenu par deux procédés :

a) **Procédé chimique :**

— attaque du zinc par l'acide sulfurique ou l'acide chlorhydrique en l'absence ou en présence d'adjuvants de réduction ;

— attaque de l'aluminium par un alcali.

b) **Procédé électrolytique :**

— électrolyse d'acide sulfurique ou chlorhydrique.

Nous allons rapidement exposer les caractéristiques des principales de ces méthodes.

A) - METHODES UTILISANT LA FIXATION DE AsH_3 PAR UN SUPPORT REACTIF

Ces méthodes peuvent être divisées en trois groupes :

— méthodes utilisant un support imprégné d'un sel mercurique ;

— méthodes utilisant un support imprégné d'un sel d'argent ;

— méthodes utilisant un support imprégné de réactifs divers.

1° Méthodes utilisant un sel mercurique.

Le premier à avoir signalé la réaction de l'hydrogène arsénié avec un papier imprégné de Cl_2Hg est Rose en 1840 [78] ; on obtient divers composés de combinaison de l'arsenic et du mercure dont les teintes varient du jaune au noir. Mayençon et Bergeret, en 1874 [63], mirent au point la première application pratique de ce procédé (*). Depuis, les microméthodes de dosage de l'arsenic basées sur l'emploi d'un tel papier n'ont cessé de faire l'objet d'études et d'améliorations. En France, la plus connue est la méthode de Cribier [17, 18], sur laquelle, d'ailleurs, nous reviendrons d'une façon plus détaillée.

(*) Signalons que cette réaction est improprement appelée aux U.S.A. méthode de Gutzeit. Cette dernière, en effet, comme nous le verrons plus loin, utilise l'action de AsH_3 sur le NO_3Ag et non pas sur le Cl_2Hg [38, 42].

Auteurs	CRIBIER 1921 [17, 18]	HEFTI, cité par TREADWELL 1934 [71, 75]	
Forme et volume du générateur à hydrogène	Flacon à large ouverture (120 à 150 ml)	Fiole conique.	Flacon
Quantité de SO_4H_2 employée	60 ml de solution de SO_4H_2 1/5.	20 ml de solution de SO_4H_2 1/8.	
Poids et nature du zinc utilisé	8 g de Zinc activé par du Cu++ (qualité non précisée).	6 à 8 g de Zinc activé par du Cu++.	
Adjuvants de réduction ..	aucun		
Volume total de la solution	75 ml		
Valence de l'Arsenic introduit dans le générateur.	+ 5 (oxydation permanganique préalable).		
Temps de réaction	2 à 6 heures	20 minutes	
Température	ordinaire		
Système épurateur des gaz	Fuseau de papier filtre desséché.	Coton desséché.	Papier à + coton gné de de Plom
Support réactif	Bandelette de papier Whatman imprégnée de solution aqueuse de Cl_2Hg à 5 p. 100 et desséchée ; largeur 5 mm ; disposée parallèlement au sens de dégagement des gaz ; impressionnée sur les deux faces.	Disque de papier imprégné d'une solution chaude saturée de Cl_2Hg.	Bandele « suédo soluti Br_2Hg a geur 2,5 la quan
Interprétation de la tache	Révélation et fixation de la tache par immersion dans une solution de IK à 10 p. 100. Comparaison des longueurs de taches.		Compar gueurs

tion de SO_4H_2, sur le zinc.

SSLEY 936 21]	GRIFFON 1938 - 1957 [34, 35, 36, 60]	JAULMES 1948 - 1953 [46, 47]	GONZALÈS 1954 [33]
rge ouverture.	Flacon à large ouverture de 150 ml, surmonté d'un bouchon creux à dôme, d'où part le tube à dégagement vertical.	Flacon de 15 ml, surmonté d'un bouchon creux à dôme, d'où part le tube à dégagement vertical ; introduction des liquides par un entonnoir latéral, dont la tige arrive au fond du flacon.	Flacon de 50 ml pourvu d'un entonnoir latéral, dont la douille arrive au fond du flacon, et servant à l'introduction des liquides.
	60 ml de solution de SO_4H_2 1/5.	SO_4H_2 1/5, ajouté par fractions de 2 ml, jusqu'à disparition du zinc.	4 ml de SO_4H_2 concentré.
	8 g de Zinc en pastilles Poulenc activé par séjour dans une solution de SO_4Cu ou de Cl_2Pt.	1 g de Zinc en pastilles, spécialement purifié et préalablement platiné.	5 g de Zinc poreux.
	aucun	aucun	$SO_4Cu + Cl_2Sn$
	75 ml		40 ml
	+ 5 (oxydation permanganique préalable).	+ 3 (réduit préalablement par SO_2).	+ 3 (réduit préalablement par SO_3HNa + action de Cl_2Sn)
	5 à 6 heures		60 minutes
	+ 15° C.	ordinaire	non précisée
tate de Plomb verre impré- ion d'acétate	Fuseau de papier filtre desséché par séjour de 1 h. à + 100° C.	Tampon de coton + papier à l'acétate de Plomb.	Coton de verre imprégné d'acétate de Plomb.
e papier filtre imprégné de alcoolique de p. 100 ; lar- mm, suivant d'Arsenic.	Bandelette de papier préparée selon la technique de Cribier, de largeur 5 mm, mais disposée perpendiculairement au courant gazeux ; impressionnée sur une seule face.	Bandelette de papier de 2,5 mm de largeur, préparée selon la technique de Cribier, et disposée parallèlement au courant gazeux.	Disques de papier de diamètres différents (selon la quantité d'Arsenic à doser) trempés dans une solution dans l'alcool absolu de Br_2Hg à 5 p. 100 et desséchés. Le papier est impressionné sur une seule face, étant placé perpendiculairement au courant gazeux.
des lon- ches.	Identique à la méthode de Cribier.	Révélation et fixation par immersion dans une solution de NO_3Ag ammoniacal.	Pas de révélation, comparaison des intensités de taches visuellement ou à l'aide d'un colorimètre photo-électrique.

Auteurs	Lockemann et Sanger 1905 - 1909 [58, 75, 79, 80]	Snijders et Van Der Drift 1935 [82]	How 1938 [43]
Forme et volume du générateur à hydrogène	Fiole conique.		Tube générateur monté de deux laveurs verticaux tenant les syst épurateurs.
Quantité de ClH employée	15 ml ClH à 15 p. 100.		ClH 1/3
Poids et nature du zinc utilisé	3 g de zinc en grenaille.		Alliage zinc - éta plomb - fer.
Adjuvants de réduction		$SO_4Fe + Cl_2Sn$	
Volume total de la solution			
Valence de l'Arsenic introduit dans le générateur			
Temps de réaction ..			
Température		Température de l'ébullition.	+ 30° C
Système épurateur des gaz	Coton hydrophile desséché à l'étuve.	Barboteur au Cl_2Cu_2 chlorhydrique + tampon de coton à l'acétate de Plomb.	Tampon de drap cial + piège de
Support réactif	Bandelette de papier sec au Cl_2Hg.	Papier au Br_2Hg.	Fragments de cot tricoter, uniformé imprégnés de sol alcoolique à 5 p de Cl_2Hg.
Interprétation de la tache	Comparaison des longueurs de taches.	Révélation et fixation par une solution d'iode. Comparative.	Révélation et fix de la tache par mersion dans un lution de NO_3Ag moniacal.Compara

(*) Association of Official Agricultural Chemists (méthode américaine).

uction de ClH sur le zinc.

Pharmacopée Internationale 1951 [72]	Méthode de l'A.O.A.C.* 1955 [68]	Pharmacopée des U.S.A. 1955 [85]	British Pharmacopoeia 1958 [84]
Flacon à large ouverture 120 ml	Flacon à large ouverture 50 ml	Flacon à large ouverture 50 ml	Flacon à large ouverture 120 ml
10 ml ClH fumant.	5 ml ClH fumant.	5 ml ClH fumant.	10 ml ClH fumant.
10 g de zinc (qualité non précisée).	15 g de zinc en bâtons ou 5 g de zinc granulé.	1,5 g de zinc granulé.	10 g de zinc granulé.
Cl_2Sn	IK + Cl_2Sn	IK + Cl_2Sn	IK + Cl_2Sn
60 ml	40 ml	40 ml	60 ml
+ 3 (réduit par Cl_2Sn)	+ 3 (réduit par Cl_2Sn et IH).	+ 3 (réduit par Cl_2Sn et IH).	+ 3 (réduit par Cl_2Sn et IH).
40 minutes	90 minutes	60 minutes	40 minutes
+ 40° C conseillé	+ 20 à + 25° C	+ 25° C	+ 40° C conseillé
Cylindre de papier à l'acétate de Plomb.	Sable imprégné de solution d'acétate de Plomb.	Sable ou coton imprégné de solution d'acétate de Plomb.	Coton à l'acétate de Plomb desséché.
Identique à celui utilisé dans la méthode de la British Pharmacopœia.	Papier trempé dans une solution alcoolique de Br_2Hg et desséché; largeur 2,5 mm ; disposé parallèlement au courant gazeux.	Identique à celui utilisé dans la méthode de l'A.O.A.C.	Papier trempé dans une solution aqueuse saturée de Cl_2Hg et desséché ; en forme de disque.
Pas de révélation. Comparaison d'intensités de taches.	Pas de révélation. Comparaison de longueurs de taches.	Pas de révélation. Comparaison de longueurs de taches.	Pas de révélation. Comparaison d'intensités de taches.

— *Méthodes électrolytiques.*

Les plus connues en France sont les méthodes de Griffon et Thuret [37] et de Castagnou et Faure [14, 28]. Toutes deux sont inspirées de la technique de Thorpe [88] et utilisent SO_4H_2 comme électrolyte.

La méthode de Griffon et Thuret réduit préalablement à la valence + 3 par action du Cl_2Sn, l'arsenic provenant des milieux de minéralisation. L'électrolyseur est un bécher renfermant un vase poreux. L'intervalle compris entre le bécher et le vase poreux constitue la cuve anodique, et l'intérieur du vase la cuve cathodique. Dans la cuve anodique se trouve l'électrolyte : SO_4H_2 à 2,5 p. 100. La solution arsenicale est introduite dans le bac cathodique. La réduction s'effectue évidemment à la cathode et l'arsine dégagée est purifiée par passage sur un papier à l'acétate de plomb qui doit être humide au moment de l'emploi. Elle est dirigée, enfin, sur une bande de papier Canson pour lavis de 3 mm de large, préalablement imprégnée de solution de Cl_2Hg dans l'alcool à 75° et desséchée (mais conservée en atmosphère saturée d'eau) ; cette bande est disposée dans le sens du dégagement gazeux et est donc impressionnée sur ses deux faces. Après une heure d'électrolyse le papier réactif est prélevé, révélé et fixé par immersion dans une solution de IK à 10 p. 100 et la longueur de la tache comparée à une gamme-étalon.

Castagnou et Faure traitent l'arsenic à la valence + 5. Le compartiment anodique est constitué par un vase cylindrique en Pyrex à double paroi, l'espace situé entre les deux parois faisant office de réfrigérant. Le compartiment cathodique est une cloche de verre terminée à sa partie inférieure par un élargissement cylindrique dont la base est garnie d'une membrane hémiperméable. Le vase anodique est garni de 20 ml de SO_4H_2 à 20 p. 100 en volumes et le compartiment cathodique du liquide à examiner. Les gaz dégagés à la cathode sont dirigés sur un disque de papier Whatman imprégné de solution de Cl_2Hg à 5 p. 100 et desséché (le diamètre du papier est différent suivant la quantité d'arsenic à doser). L'opération est poursuivie durant 6 heures et la tache est révélée et fixée par immersion dans la solution classique de IK. Le dosage s'effectue par comparaison de l'intensité de coloration avec une gamme-étalon.

— *Méthodes diverses utilisant un support aux sels mercuriques.*

Il convient de signaler également diverses méthodes qui, toutes, utilisent un support réactif pour la détection de l'arsine (*) :

— méthode de Léonardon et Délépine qui emploie un appareil de Cribier à peine modifié [54].

— méthode de Berton où l'alimentation de l'appareil en SO_4H_2 est progressive comme dans la méthode de Turpin ; le papier est imprégné de solution de Cl_2Hg à 1 p. 100 [8].

— méthode de Winckler [94] et de Bystrov et Parshicov [11], qui utilisent un papier au Br_2Hg.

— Mayrand [64] formait l'arsine grâce à l'attaque de l'aluminium par ClH dilué en présence de Cl_2Sn et utilisait un papier au Br_2Hg.

— plus récemment, Ferencz, au Brésil, utilise l'action d'un mélange de ClH et de SO_4H_2 sur du zinc ; le papier est au Cl_2Hg [29].

— signalons les méthodes de Bach [2], Bloch et Antoine [10], Soos et Selenyi [83], Kitamura [51], dans lesquelles le support du réactif

---

(*) Dénomination de l'hydrogène arsénié chez les Anglo-saxons adoptée concurremment avec les désignations courantes par R. Dolique dans le *Traité de chimie minérale* de Pascal [70].

n'est plus du papier mais de la terre d'infusoires ou du silicagel imprégnés de Cl_2Hg ou de Br_2Hg.

— Fisher et Langhammer ont mis au point une méthode permettant de détecter successivement dans le même échantillon et sans isolement préalable l'arsenic et l'antimoine [30]. Pour cela, l'arsine est d'abord formée par action de la soude sur l'aluminium (dans ces conditions l'hydrogène antimonié ne se forme pas) et les gaz sont recueillis sur un papier au Br_2Hg. Puis, lorsque la réaction est terminée, on élimine l'aluminium restant et on effectue la formation d'hydrure d'antimoine par action de SO_4H_2 sur du zinc.

— enfin, les pharmacopées autrichienne [48] et portugaise [89] utilisent, pour la détection de l'arsenic, des méthodes type Gutzeit (*).

2° Méthodes utilisant un support imprégné d'un sel d'argent.

L'hydrogène arsénié réduit les sels d'argent en formant de l'argent métallique et de l'anhydride arsénieux, selon la réaction :

$$As^{-3} + 6\ Ag^{+1} \rightarrow As^{+3} + 6\ Ag^{0}$$

Hoffmann [41] et Reichardt [74] utilisèrent, les premiers, cette réaction pour le dosage de l'arsenic ; mais c'est Gatehouse [32], puis Gutzeit [38], qui eurent l'idée de faire réagir l'hydrogène arsénié non plus sur une solution de NO_3Ag mais sur un papier imprégné de ce sel. Le dosage s'effectue par comparaison de la tache d'argent réduit obtenue avec une gamme de taches étalons.

Actuellement, on peut classer les méthodes utilisant un support à l'argent en deux catégories :

— méthodes comparatives s'intéressant à la longueur ou à l'intensité de la tache d'argent réduit,

— méthodes s'occupant, au contraire, de l'arsenic à la valence + 3 retenu par le support, composé qui est extrait et dosé par une méthode en général polarographique [19, 20, 40].

Nous ne décrirons maintenant que les premières, réservant pour la suite de ce travail l'étude des secondes, car elles constituent la base même de notre expérimentation.

La première méthode française de cet ordre a été mise au point par Martin et Pien en 1930 [62]. Les auteurs préconisent trois dispositifs, selon la sensibilité désirée :

— pour des doses supérieures à 0,5 mcg, on utilise comme générateur à hydrogène un flacon à large ouverture de 250 ml, dans lequel les réactifs et la prise d'essai sont introduits à l'aide d'un entonnoir à longue douille touchant le fond du générateur. Les gaz sont dirigés dans un barboteur à hypochlorite alcalin, puis sur une bande de papier de 6 mm de largeur imprégnée de solution de NO_3Ag à 5 p. 100, puis séchée.

— un deuxième dispositif est constitué par un gros tube à essai formant générateur. Solution à examiner et réactifs sont introduits par un entonnoir à douille longue et recourbée, arrivant au fond du générateur. Les gaz passent dans un tube renfermant du coton imprégné de solution d'acétate de plomb pour aller rencontrer, perpendiculairement à leur direction, un disque de papier réactif préparé de la même façon que dans la méthode précédente.

— enfin, cet appareil modifié de manière à ce que le tube purificateur soit terminé par une partie effilée arrivant à 1 mm du papier réactif, permet une augmentation de la sensibilité et rend possible l'appréciation de quantités aussi petites que 0,1 mcg.

(*) Rappelons que cette dénomination est impropre mais consacrée par l'usage.

Truffert [91] préfère employer un papier photographique au citrate d'argent. Son appareil est constitué par un flacon générateur de petite capacité, dans lequel arrive la douille d'un entonnoir à longue tige permettant l'introduction des liquides ; cette douille est recourbée à son extrémité inférieure. Les gaz dégagés du générateur sont dirigés vers un barboteur à boules contenant une solution de potasse, avant de venir impressionner sur une seule face une bandelette de papier « Cellofix » de 5 mm de largeur, isolée de la lumière extérieure. L'auteur utilise pour la production de l'hydrogène, l'action de 15 ml de SO_4H_2 1/15 en volumes admis peu à peu, sur 2 g de zinc platiné. L'opération dure une heure, le générateur étant immergé dans de l'eau pour éviter tout échauffement. A la fin, on chasse la totalité des gaz de l'appareil en le remplissant peu à peu avec du SO_4H_2 1/15. Le papier réactif est alors fixé dans un bain d'hyposulfite avant d'être comparé à une gamme-étalon.

Truffert reconnaît lui-même que la purification par barbotage dans la solution de potasse n'est pas complète, surtout pour PH_3 et SbH_3, ce qui est un grave inconvénient.

Ces méthodes aux papiers argentiques, pas plus d'ailleurs que les méthodes aux papiers mercuriques, bien que très sensibles en général, ne sont pas rigoureusement spécifiques ; aussi de nombreux auteurs, nous l'avons vu, ont-ils muni leurs appareils de divers systèmes épurateurs fréquemment constitués de supports imprégnés d'acétate de plomb ou bien de barboteurs à l'hypochlorite ou a la potasse ; ceci dans le but de retenir l'anhydride sulfureux et différents hydrures métalloïdiques, dont celui d'antimoine, tous susceptibles d'être présents ou de se former dans le générateur et ainsi d'être amenés au contact du papier réactif sur lequel leur action s'additionne à celle de l'hydrogene arsénié (*). Mais même si ces réactifs épurateurs sont efficaces, ils absorbent néanmoins un peu d'hydrure d'arsenic et ainsi diminuent la précision de la méthode [73]. L'idéal est d'identifier et de doser sur le papier, non pas l'argent réduit ou le composé de mercure et d'arsenic formé, mais bien l'arsenic lui-même ; ceci permet d'obtenir une spécificité absolue et de supprimer tout système épurateur susceptible de diminuer le rendement. C'est ce que réalisent, nous le verrons, les méthodes se terminant par une identification et un dosage polarographiques de l'arsenic fixé par le papier.

En raison des inconvénients présentés, il existe relativement peu de méthodes utilisant encore des papiers argentiques par rapport à l'abondance des techniques mettant en œuvre des papiers mercuriques. Citons cependant les méthodes de Balavoine [3], Delaby et Ferrand [23], qui produisent l'hydrure d'arsenic par action de la potasse sur l'aluminium, et, enfin, de Fukamauchi et Obata [31], qui utilisent l'action de la soude sur le zinc.

3° Méthodes utilisant un support imprégné de réactifs divers.

Le principe des méthodes précédentes a été retenu par de nombreux auteurs qui ont voulu essayer des supports réactifs inédits.

Le chlorure d'or, en particulier, a été assez souvent adopté ; on obtient, avec ce réactif, une coloration violette [94]. C'est ainsi que Morkanjac et Rasajski [65] obtiennent, avec un papier imprégné de ce réactif, une sensibilité supérieure à celle obtenue avec des papiers au mercure ou à l'argent. De même pour Thoma et Shontag (**) [86]. Un groupe d'auteurs japonais utilise une colonne de silicagel imprégnée de chlorure d'or, la formation de l'arsine étant obtenue par action de ClH sur le zinc, en présence de Cl_2Sn et de IK [52].

(*) Encore plus que les papiers mercuriques, les papiers à l'argent sont sensibles à ces différents gaz.

(**) Cette méthode offre la particularité d'un système épurateur au sulfate de cadmium pour retenir l'hydrogène sulfuré.

En France, Vial de Sachy [93] adopte une méthode type Cribier, mais en utilisant 5 ml de SO_4H_2 à 10 p. 100 et un papier imprégné de SO_4Cu ; il obtient une coloration brun-noir ; cette méthode présenterait l'avantage de donner des résultats négatifs avec SbH_3.

Citons également, comme réactifs de l'hydrogène arsénié, l'oxime additionnée de chlorure ferreux qui fournit une couleur bleu-vert [39], le chromate de potassium [7] et le réactif de Nessler produisant une coloration rouge [24].

B) - METHODES UTILISANT LA TRANSFORMATION DE AsH_3 PAR CONTACT AVEC UN REACTIF EN PHASE LIQUIDE

Les méthodes de ce type semblent avoir actuellement une grande vogue à l'étranger (en particulier aux U.S.A. et en U.R.S.S.), aussi ne pouvions-nous les passer sous silence, d'autant plus que l'une d'entre elles se termine par un dosage polarographique (Bambach) ; c'est, pensons-nous, la première méthode appliquant ce procédé physique à la détection de l'arsenic dans un matériel biologique [4]. Nous ne la citons ici que pour mémoire, nous réservant de la traiter en détail au cours du chapitre suivant consacré à la polarographie de l'arsenic et de l'antimoine.

Mise à part cette dernière qui s'individualise nettement, ces méthodes peuvent être classées en deux groupes :

— méthodes se terminant par un dosage chimique,

— méthodes se terminant par un dosage colorimétrique.

Réactif oxydant le AsH_3	SOLUTION TITREE D'IODE $As^{-3} + 8\ I^0 \rightarrow As^{+5} + 8\ I^-$		
Auteurs	HEFTI cité par TREADWELL 1934 [90]	JURECEK et JENIK 1954 [49]	ALLCROFT et GRE 1935 [1]
Mode opératoire	AsH_3 est formé par électrolyse. De la cathode, les gaz formés sont dirigés vers un absorbeur contenant un volume connu de solution titrée d'iode. A la fin de la réaction, l'excès d'iode est dosé par l'hyposulfite. Par différence, on a l'iode ayant oxydé les ions As^{-3} et donc l'arsenic de la prise d'essai.	L'arsenic de la prise d'essai est transformé en arséniure de magnésium par réduction par voie sèche à l'aide de Magnésium métallique en tube scellé. As_2Mg_3 formé, est ensuite décomposé par SO_4H_2, et l'hydrure d'arsenic dirigé dans un volume connu de solution titrée d'iode dans la pyridine. Par titrage de l'iode en excès, on obtient, par retour, la quantité d'arsenic ayant réagi.	AsH_3, formé par technique type zeit, est entraîné le courant d'hydr ne dans une solu de NO_3Ag. L'anhyd arsénieux formé titré par l'iode, en sence de CO_3NaH d'une quantité s sante de IK pour soudre l'iodure gent formé.

un dosage chimique

SOLUTION DE NITRATE D'ARGENT			SOLUTION DE CHLORURE MERCURIQUE
LEWY 1943 [55]	MAC CHESNEY 1949 [59]	KRYLOVA 1956 [53]	CASSIL et WICHMANN 1939 - 1941 [12, 13]
AsH_3 est formé par action de SO_4H_2 sur du Zinc, en présence de Cl_2Sn et SO_4Cu. Il barbote dans du NO_3Ag 0,1 N pendant 30 minutes. On ajoute alors du IK, qui dissout l'argent réduit en formant de l'iode. Celui-ci est titré. L'essai s'effectue comparativement à un témoin contenant une quantité connue d'anhydride arsénieux.	L'arsine barbote dans une solution de NO_3Ag concentrée. L'argent réduit formé est isolé et dissous dans une solution de sulfate de cerium en excès. En titrant l'excès de ce réactif, on obtient par double retour la quantité d'arsenic.	Formation de AsH_3 par action de SO_4H_2 20 %, contenant du Cl_2Sn sur du Zinc activé par le SO_4Cu. Barbotage des gaz dans un volume connu de solution de NO_3Ag 0,01 N, en présence de NaOH. Après 6 h. de dégagement, on filtre le barboteur et acidifie le filtrat par NO_3H concentré. L'excès d'argent est alors titré par le sulfocyanate d'ammonium. Par différence, on obtient la quantité d'arsenic ayant réagi.	AsH_3 étant absorbé par une telle solution, il se formerait du As_2O_3 et du Cl_2Hg_2. Le mélange est traité par un volume connu de solution d'iode titrée en présence de CO_3NaH. L'excès d'iode est titré, et l'iode consommé représente l'arsenic de la prise d'essai.

2° Méthodes utilisant un dosage colorimétrique.

Ces méthodes, mise à part celle proposée par Morin pour le dosage de l'arsenic dans l'oxyde de titane (*) [66], utilisent :

— soit la formation d'hétéropolyacide entre l'arsenic à la valence + 5 et le molybdate d'ammonium, arseniomolybdate qui, par réduction, fournit un composé de coloration bleue ;

— soit la formation d'un complexe de couleur pourpre entre l'AsH_3 et le diéthylthiocarbamate d'argent.

La méthode de Morin consiste à faire barboter l'hydrogène arsénié produit par action de SO_4H_2 sur le zinc dans de l'iode 0,1 N en présence de CO_3NaH. A la fin de la réaction, le liquide de l'absorbeur est évaporé à sec et le résidu est dissous dans l'eau. On effectue ensuite sur cette solution la réaction classique de Bougault et évalue turbidimétriquement le précipité formé.

(*) Signalons que cette méthode a été proposée pour l'inscription au Codex français 1960. S'il en est ainsi, elle sera le premier procédé utilisé par la pharmacopée française s'inspirant de la technique de Cribier [16 *bis*].

Réactif oxydant AsH_3	SOLUTION D'IODE			
Auteurs	ROGERS et HEROW 1946 [77]	EVANS et BANDEMER 1954 [26]	SIMON 1956 [81]	OLIVER et 19 [6
Mode opératoire	La production d'arsine est effectuée par voie électrolytique. Les gaz barbotent dans une solution bicarbonatée d'iode et l'arsenic à la valence + 5 est évalué par transformation en arséniomolybdate et réduction de ce composé.	Ne diffère de la précédente que par le mode de production de l'arsine : sur ce point, analogue aux procédés des Pharmacopées anglo-saxonnes.	Minéralisation par voie sèche dans une bombe. Le résidu est repris par ClH et la distillation de l'arsine effectuée grâce à l'action de cet acide sur du zinc, en présence de IK et de Cl_2Sn. Les gaz sont recueillis dans une solution iodo-iodurée bicarbonatée, qui est ensuite décolorée par l'hyposulfite. L'arsenic à la valence + 5 formé est enfin dosé à l'état d'arséniomolybdate.	AsH_3 est rectement du matér que sans tion préa action de du zinc e de IK et gaz sont a de la pou lulose imp I_2Hg en so tonique. A la réactio dre est une solut 0,001 N. à l'éluat tion de d'ammoniu fate d'hy évalue la spectropho quement.

(*) Cette méthode fait en quelque sorte la transition entre les méthodes utilisant un suppo un support de cellulose, mais celui-ci est ensuite élué et l'on se retrouve dans les conditions où

(**) Cf. page 21

ormation d'arséniomolybdate.

	BROME OU HYPOBROMITE		SOLUTION DE PERMANGANATE DE POTASSIUM	
EL (*)	RIOU et PARÉ 1942 [76]	GOMEZ - CASTILLO 1944 [32 *bis*]	CASTAGNOU et FAURE 1953 [15, 28]	NAZARENKO et BYK 1956 [67]
né di- partir iologi- ralisa- par I sur ésence n. Les és sur e cel- ée de n acé- ïn de pou- par d'iode ajoute solu- bdate u sul- ıe, et ration tri-	L'hydrure d'arsenic est absorbé par une solution de Cl_2Hg. L'oxydation de l'arsenic est complétée par un excès d'eau de brome, et le métalloïde est dosé à l'état de « bleu molybdique ».	AsH_3 est distillée dans de l'hypobromite de sodium. Cette solution est ensuite directement traitée par du molybdate d'ammonium et du sulfate d'hydrazine, et la coloration est évaluée spectrophotométriquement.	L'arsine produite par un procédé électrolytique (**) est fixée dans une solution de MnO_4K 0,1 N. On ajoute ensuite un réactif molybdique et du NO_2Na pour éliminer MnO_4K, puis de l'eau de Br_2 pour chasser l'excès de nitrite. On chauffe enfin pour débarrasser le milieu du brome, et forme l'arsenioconjugué céruléomolybdique par action d'un réactif molybdeux.	Oxydation de l'hydrogène arsénié par barbotage dans une solution de Cl_2Hg et MnO_4K. On forme ensuite l'arséniomolybdate en présence d'hydrazine, et le complexe bleu est extrait par l'alcool isoamylique et dosé colorimétriquement.

ctif et celles étudiées ici. En effet, l'absorption de l'arsine se fait sur
nic à la valence +5 formé est évalué en phase liquide.

— *Méthodes utilisant la formation d'un complexe pourpre entre l'arsine et le diéthylthiocarbamate d'argent.*

Auteurs	Vasak et Sedivec 1942 [92]	Jurecek et Jenik 1955 [50]	Chundela et Vorel 1957 [16]	Liederman et Bowen 1959 [56]
Mode opératoire	L'arsine est obtenue par une méthode de type Gutzeit, en présence de IK et Cl_2Sn. Les gaz sont recueillis dans une solution de $Et_2NSCSAg$ et la couleur évaluée au photomètre à 560 m_μ.	Méthode analogue à la précédente, avec quelques modifications de détail.	Permet une séparation qualitative de l'arsenic et de l'antimoine à partir de milieux biologiques. Après une minéralisation sulfonitrique, le pH du milieu est rendu très alcalin et l'arsine est formée grâce à l'addition d'Aluminium au milieu ; le gaz est absorbé par une solution pyridinique de $Et_2NSCSAg$. Dans ces conditions, la stibine n'est pas formée ; on élimine ensuite l'Aluminium, revient en milieu acide et ajoute du Zinc : SbH_3 distilll et est absorbé à son tour de la même façon que AsH_3. On obtient alors une coloration rouge cerise.	Utilisent pour le dosage de l'arsenic contenu dans les pétroles la formation de AsH_3 par action de SO_4H_2 sur du zinc en présence de IK et Cl_2Sn en milieu agité. L'arsine est absorbée par une solution pyridinique de $Et_2NSCSAg$ et la couleur évaluée spectrophotométriquement.

SECTION II

METHODE DE CRIBIER

Très connue des toxicologues, la méthode de Cribier [17] a été, nous l'avons déjà dit, **complètement ignorée jusqu'à présent par le Codex français.** Et pourtant, l'idée de l'auteur était de mettre au point un test de l' « arsenic disséminé dans les médicaments chimiques ».

Cribier s'est attaché essentiellement à rendre la méthode de Mayencon et Bergeret [63] spécifique et quantitative (*) et à stabiliser la tache obtenue sur le papier; en effet jusqu'à lui tous les procédés utilisés dans ce but s'étaient révélés inefficaces [9, 79, 80, 85].

Ces deux problèmes ont été résolus, pour le premier partiellement et pour le second avec un plein succès.

L'action oxydante du permanganate préalablement à la formation de l'arsine permet d'oxyder à la valence maxima les sulfures, sulfites, hyposulfites, phosphites et hypophosphites présents, composés tous susceptibles d'être réduits en hydrures et ainsi d'impressionner le papier réactif alors que les sulfates et phosphates ne sont pas réduits par l'hydrogène naissant à la température à laquelle on opère. Ainsi tout système épurateur est supprimé. Du même coup, l'arsenic qui pourrait être engagé sous sa valence + 3 dans une combinaison est rendu pentavalent et ainsi la longueur de la tache obtenue sur le papier aura toujours une valeur comparative à ce point de vue (**). Malheureusement, et nous l'avons contrôlé, la **formation d'hydrogène antimonié n'est pas totalement inhibée par ce traitement.** Certes cet hydrure n'impressionne le papier réactif que faiblement, la tache étant plutôt grise que noire, mais elle est **tout de même intensifiée** par le réactif révélateur et si ensuite elle disparaît peu à peu, elle peut néanmoins être une cause d'erreur si la lecture est effectuée immédiatement après le séchage.

La deuxième innovation de Cribier est la stabilisation des taches par immersion dans une solution d'iodure de potassium à 10 p. 100. C'est à notre avis ce procédé qui a fait le grand

(*) En effet, dans cette méthode les mêmes hydrures volatils que ceux signalés par Truffert [91] peuvent impressionner le papier au chlorure mercurique.

(**) Les arsenites sont réduits en hydrogène arsénié plus rapidement que les arseniates et ainsi la tache obtenue avec les premiers est plus longue que celle provoquée par la réduction des seconds.

succès de cette méthode en toxicologie car il permet d'obtenir une pièce à conviction conservant toute sa valeur avec le temps.

L'auteur utilise comme générateur un flacon à large ouverture de 120 à 150 ml. fermé par un bouchon de liège percé d'un trou à travers lequel passe un tube ouvert, long de 300 mm et de diamètre intérieur 5 mm ; son extrémité inférieure est effilée et présente, à 25 mm de la pointe, une ouverture circulaire de 3 mm de diamètre. Ce tube de verre est adapté au bouchon de manière à ce que l'ouverture latérale soit à 10 mm de la face inférieure de celui-ci. Cette architecture est destinée à empêcher l'entraînement de liquide dans le tube.

Pour dessécher convenablement les gaz (une trop grande humidité diminuant considérablement la longueur de la tache), l'auteur ajoute encore à ce dispositif un rouleau de papier filtre bien sec disposé à la partie inférieure du tube à dégagement.

A 20 mm au moins de ce dernier papier, dans la partie distale du tube est placée une bande de papier à dessin Whatman, large de 5 mm exactement, et passant par l'axe du tube. Ce papier a été préalablement traité de la façon suivante :

— immersion de 10 minutes dans une solution aqueuse de Cl_2Hg 5 p. 100,

— séchage à l'abri de la lumière,

— conservation également à l'abri de la lumière et de l'humidité.

L'appareil étant ainsi équipé, le générateur est garni de 8 g de zinc auparavant activé par immersion de 10 minutes dans une solution de SO_4Cu 1/10, puis lavé.

D'autre part la solution arsénicale acide a été préparée en ajoutant à la prise d'essai 60 ml de solution de SO_4H_2 1/5 p/v et de l'eau distillée en quantité suffisante pour 75 ml. Elle est traitée par quelques gouttes de solution de MnO_4K 1 p. 1.000 et l'excès de MnO_4K est décoloré par II ou III gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes diluée au centième.

On introduit d'un seul coup cette solution dans l'appareil qui est immédiatement bouché : l'hydrogène arsénié commence à se dégager au bout de 2 à 3 minutes, suivant la quantité d'arsenic, et impressionne le papier réactif en s'accumulant à la partie inférieure de la bande. La réaction est poursuivie pendant un temps variable de 2 à 6 heures, et même plus, suivant la quantité d'arsenic ; en effet, celui-ci a une action catalytique sur l'attaque du zinc par l'acide sulfurique, et le dégagement est très rapide en présence de quantités importantes d'arsenic et, au contraire, très lent pour les faibles doses.

A la fin de l'opération, la bande impressionnée est prélevée et immergée pendant 15 minutes dans une solution à 10 p. 100 de IK. D'abord, il y a formation sur toute la bande de I_2Hg rouge qui, peu à peu, se dissout dans l'excès de réactif tandis que la tache jaune brun de la partie impressionnée vire au brun rougeâtre et s'allonge également, devenant visible sur la partie du papier restée blanche qui la suit immédiatement. On retire alors la bande du réactif et la lave plusieurs fois à l'eau distillée, puis la laisse sécher à température ordinaire.

La longueur de la tache est alors comparée à celles obtenues dans des conditions rigoureusement identiques avec des quantités connues d'arsenic. Cribier avait ainsi préparé une gamme de dix-huit bandes étalons, s'étageant de 0,1 à 100 mcg.

La méthode de Cribier est donc une méthode **extrêmement sensible et presque spécifique de l'arsenic**. Elle est également

très simple et permet de conserver des « **témoins permanents** » de la présence d'arsenic dans le milieu analysé. Ces dernières qualités surtout ont fait son succès. Cependant sa **précision laisse beaucoup à désirer** et de nombreux facteurs influent considérablement sur la quantité d'arsine retenue par le papier et la longueur de la tache. Cribier pensait que dans sa méthode tout l'arsenic était effectivement distillé. Il n'en est rien, comme l'ont montré plusieurs expérimentateurs travaillant avec des méthodes de dosage de principes fort différents que nous exposerons plus loin : Griffon et Buisson [35, 56], Jaulmes et Rivemale [45, 75], Cristau [19, 20]. Ces auteurs se sont attachés à déterminer quelles étaient les causes du déficit dans le dégagement d'hydrogène arsénié et ont essayé de réduire leur action au minimum.

SECTION III

ETUDE DU MECANISME DE LA TECHNIQUE DE CRIBIER D'APRES GRIFFON ET BUISSON

Ces auteurs [35] constatèrent d'abord que les gammes-étalons obtenues par divers expérimentateurs [5, 22, 54, 57, 87] et par eux-mêmes différaient considérablement l'une de l'autre par les longueurs des taches obtenues et que celles-ci étaient toujours inférieures à celles présentées par Cribier. Ils pensent comme Cribier d'ailleurs le pressentait, que, pour une même quantité d'arsenic, la longueur des taches est en relation avec la rapidité du courant gazeux, ce qui nécessite d'opérer toujours rigoureusement dans les mêmes conditions. Egalement la texture même du papier réactif peut être une cause des différences constatées.

En définitive, la longueur des taches est fonction de trois facteurs :

— **surface d'attaque et activation du zinc,**

— **température du mélange réactionnel,**

— **texture du papier réactif qui est différente sur chacune des faces.**

Sur le premier point, ils soulignent que les différents échantillons de zinc spécialement adaptés au dosage de l'arsenic sont d'une pureté très poussée vis-à-vis de cet élément, mais diffèrent sensiblement entre eux par la nature et la quantité des autres impuretés. Ce fait, nous le verrons plus loin, a eu une incidence sur l'établissement de notre propre méthode de dosage. Il conviendrait donc, avant d'utiliser un échantillon de zinc, d'estimer la quantité d'activant qu'il faut lui adjoindre pour obtenir un débit d'hydrogène donné.

Au sujet de la température du générateur, Cribier ne donne aucune précision. Les autres auteurs opèrent à 15°. Griffon et Buisson ont obtenu des taches plus longues en opérant sans refroidissement.

Dans un travail récent, Griffon [34] observe en outre que **la longueur des taches est nettement réduite par l'humidité du courant gazeux,** aussi augmente-t-il la longueur du papier desséchant et le déshydrate-t-il préalablement à l'étuve à +100° +105° C.

Les conclusions de ces remarques sont que, la méthode de Cribier étant comparative, **chaque opérateur doit préparer sa**

propre gamme étalon et opérer pour chaque dosage dans des conditions rigoureusement identiques à celles observées dans la préparation de cette gamme.

S'appuyant sur ces données, Griffon et ses collaborateurs ont mis au point un appareil, perfectionné à plusieurs reprises [34, 35, 60], permettant une nette augmentation de la précision et de la sensibilité de la méthode de Cribier. La tache est obtenue dans cette technique sur une seule face du papier, toujours la même et repérée préalablement par un trait de crayon.

Dans le même mémoire, Griffon et Buisson effectuent une étude cinétique des relations réciproques entre le débit d'hydrogène et la quantité d'arsenic distillé (donc les longueurs de taches).

Ils concluent que :

— **le volume total d'hydrogène dégagé** pendant un temps déterminé (60 minutes) est **indépendant de la quantité d'arsenic** mise en œuvre;

— **la vitesse du courant gazeux est d'autant plus grande** au début de l'opération que **la quantité d'arsenic est plus importante,** ce qui confirme la constatation de Cribier;

— **le dégagement d'arsenic suit le dégagement d'hydrogène** et la longueur maxima de la tache est atteinte au moment du débit maximum d'hydrogène, soit 15 à 20 minutes après le début de l'opération, ensuite la tache ne s'accroît qu'en intensité et plus en longueur.

Contrairement à ce que pensait Cribier, **20 à 30** % seulement de l'arsenic mis en œuvre est distillé et contribue à la formation de la tache; pour obtenir ces résultats, Griffon et Buisson utilisent une technique en deux temps comportant un barbotage des gaz dans une solution de MnO_4K, technique du type de celles qu'ils utilisèrent ensuite pour le dosage de l'arsenic dans les urines et dont nous dirons quelques mots par la suite.

L'année suivante, les mêmes auteurs étudiant **l'application** de la technique aux milieux biologiques et plus particulièrement à l'urine [36] confirmèrent l'opinion déjà exprimée par Barthe et Massy [6] sur la méthode de Marsh, à savoir que :

— **les sels solubles alcalins** contenus dans le résidu de minéralisation ont une **influence néfaste** sur la formation d'hydrogène arsénié, du moins s'ils sont en quantité supérieure à 1 gramme;

— **les sels insolubles** et plus particulièrement le sulfate de calcium presque toujours présent sous cette forme dans les

minéralisats urinaires, **ralentissent le dégagement gazeux** et de ce fait la **formation de l'arsine.**

Partant du principe que, lors du dégagement, un tiers seulement de l'arsenic arrive au contact du papier réactif et l'impressionne, ils pensent qu'en ajoutant à nouveau dans le milieu, à la fin de la réaction, une nouvelle quantité de SO_4H_2 identique à la quantité initiale (à condition, évidemment, que le zinc n'ait pas été complètement consommé), on pourra distiller du milieu encore un tiers de l'arsenic restant (constituant donc environ 70 p. 100 de l'arsenic de la prise d'essai) et qu'en répétant cette opération plusieurs fois on pourra arriver à obtenir une tache représentant la quasi-totalité de l'arsenic présent dans le milieu réactionnel.

Sur ces données, ils établissent une méthode de dosage de l'arsenic à partir de minéralisats urinaires, comportant deux temps :

1° **Isolement de l'arsenic en solution pure, pour éviter l'influence perturbatrice des sels présents dans le résidu de minéralisation.**

Ils utilisent pour cela 15 g de zinc activé par le SO_4Cu, sur lequel réagit 25 à 30 ml de la liqueur arsenicale sulfurique au 1/5. Lorsque le dégagement d'hydrogène a presque cessé, ils rajoutent d'un seul coup 25 ml de SO_4H_2 1/5 puis répètent une nouvelle fois cette opération. Ils ont donc opéré avec des quantités de zinc et de SO_4H_2 (24 à 25 g environ) nettement plus importantes que celles qu'utilisait Cribier.

Les gaz sont recueillis dans un double barboteur contenant 6 ml de solution sulfurique au 1/10 de MnO_4K à 2,5 p. 100. Dans ce barboteur, l'AsH_3 dégagé est retenu quantitativement et oxydé à l'état d'arsenic pentavalent.

2° **Dosage de l'arsenic.** — Le liquide du barboteur est introduit dans l'appareil plus classique mis au point par ces auteurs (*) et le dosage est terminé par un Cribier normal après élimination du dépôt de MnO_2 formé et de l'excès de MnO_4K par l'eau oxygénée, en respectant évidemment les modifications de détail déjà préconisées (*).

Dans ces conditions, l'influence perturbatrice des sels est négligeable puisque l'on n'introduit avec la liqueur permanganique, dans le deuxième générateur, qu'une quantité de MnO_4K bien inférieure au gramme.

Les conclusions que nous avons tirées de cette étude et que d'autres ont tirées avant nous [75] sont que :

— la technique de Cribier et, plus généralement, les techniques de dosage de l'arsenic utilisant la formation et la distillation d'arsine, ne sont **rigoureusement applicables qu'à l'arsenic préalablement isolé en solution purifiée**, exempte de composés perturbateurs (sels solubles, SO_4Ca, etc.);

— **la température** du milieu réactionnel a une influence certaine sur le **rendement de l'opération;**

— **la surface d'attaque et l'activation du zinc** ont également une influence non négligeable;

— le maintien dans le générateur d'une **concentration en**

(*) Cf. p. 34.

acide aussi constante que possible est important : ceci permet d'obtenir une vitesse de dégagement élevée mais régulière durant tout le temps de l'opération. C'est là un facteur essentiel pour la recherche d'un dosage véritablement quantitatif.

Sur ces observations, nous avons basé en partie les conditions de notre méthode de dosage. Nous avons également tenu compte de la théorie de Jaulmes sur le dégagement de l'hydrogène arsénié à partir de tels milieux réactionnels. C'est cette dernière que nous allons exposer maintenant.

SECTION IV

THEORIE ET APPLICATIONS EXPERIMENTALES DE JAULMES ET RIVEMALE

Cette théorie n'est autre que l'extension au cas de l'hydrure d'arsenic se dégageant dans un générateur à hydrogène, des calculs effectués en 1937 par Jaulmes [44] sur l'entraînement par la vapeur d'eau des corps volatils en solution.

L'idée de cette application a été donnée à Rivemale et Jaulmes [45, 75] par une phrase du mémoire de Griffon et Thuret sur l'hydrogénation électrolytique des arsénites [37]. Ces derniers, en conclusion, disaient : « **Tout se passe comme si l'arsenic, en solution sous une forme volatile, était entraîné par le barbotage d'un courant d'hydrogène de débit constant à travers cette solution** ». Mais ces auteurs n'ont pas exploité cette idée et Rivemale a voulu vérifier si cette analogie était bien réelle. Pour cela, il a simplement appliqué les calculs de Jaulmes au cas de l'hydrogène arsénié.

Voyons d'abord les grandes lignes de cette théorie : elle étudie l'entraînement par la vapeur d'eau d'un acide volatil dissous dans ce solvant.

Considérons le cas d'une distillation simple ; soit :

A_1 la masse de substance volatile dissoute contenue avant distillation dans le liquide de masse M_1,

A_2 la masse de substance volatile restant à la fin dans le liquide non distillé de masse M_2.

Entre ces grandeurs, on a la relation :

$$\frac{A_2}{A_1} = \left(\frac{M_2}{M_1}\right)^K$$

où K est le coefficient de distillation, rapport entre les titres de la substance volatile dans la vapeur et dans le liquide à l'ébullition à un instant donné. Le rapport est constant pour une solution diluée.

Il est donc, en théorie, possible de distiller presque en totalité la substance volatile lorsque K est plus grand que 1 ; si, par exemple, on veut obtenir 99 p. 100 du corps volatil, il faut que :

$$\left(\frac{M_2}{M_1}\right)^K = \frac{1}{100}$$; si l'on prend K = 10, on aura :

$$\frac{M_1}{M_2} = \left(\frac{1}{100}\right)^{\frac{1}{10}} = 0{,}631$$

il suffit donc, pour atteindre le but proposé, de distiller 36,9 p. 100 de liquide initial.

Donc, connaissant le coefficient de distillation, il est toujours possible de calculer la masse de distillat qu'il est nécessaire d'obtenir pour que la quasi-totalité de la substance volatile soit distillée.

Dans le cas d'un entraînement par la vapeur d'eau, donc lorsque le volume de la solution soumise à la distillation est maintenu constant, le calcul est un peu plus compliqué, soit :

A_1 la masse de substance volatile mise en distillation.

A_2 la masse de substance volatile restant après distillation.

Y la masse de substance volatile distillée.

M la masse de solution à distiller (qui est donc constante tout le temps de l'opération).

N la masse de liquide distillé.

A un instant donné, le titre de la substance volatile dans la vapeur est : $\frac{dY}{dN}$

Dans le liquide soumis à l'entraînement, il est : $\frac{A_1 - Y}{M}$

Par définition, la valeur de K est :

$$K = \frac{\frac{dY}{dN}}{\frac{A_1 - Y}{M}}$$

ou en séparant les variables (Y et N) :

$$\frac{dY}{A_1 - Y} = dN \frac{K}{M}$$

ou : $$- dL \ (A_1 - Y) = dN \frac{K}{M}$$

On peut intégrer cette équation différentielle car K, M et A_1 sont constants ; on a donc :

$$- \int dL \ (A_1 - Y) = \frac{K}{M} \int dN$$

$$- L \frac{A_1 - Y}{A_1} + Cte = \frac{K}{M} N + Cte$$

On détermine les constantes d'intégration en égalant à 0 les variables ; on obtient une valeur nulle, et l'équation intégrée devient :

$$- L \frac{A_1 - Y}{A_1} = \frac{K}{M} N$$

(I) ou : $$L \frac{A_1 - Y}{A_1} = - \frac{KN}{M} \qquad \frac{A_1 - Y}{A_1} = e^{- \frac{KN}{M}}$$

$$A_1 - Y = A_1 \, e^{-\frac{KN}{M}}$$

$$-Y = A_1 \left(e^{-\frac{KN}{M}} - 1\right)$$

$$Y = A_1 \left(1 - e^{-\frac{KN}{M}}\right)$$

Donc, la masse de substance volatile distillée est égale à la masse mise en distillation, diminuée d'un facteur dépendant exponentiellement du coefficient de distillation et du rapport des masses du liquide initial et du liquide distillé.

Théoriquement, pour que la totalité de la substance volatile soit distillée, donc que $Y = A_1$, il faut que $e^{-\frac{KN}{M}}$ s'annule ; or, K et M étant constants, la seule variable est N et il faudrait que $N = \infty$. **Donc, pour entraîner la totalité de la substance il faut que le volume de distillat soit infini, ce qui est évidemment impossible.**

Cependant on peut recueillir une masse N de distillat telle que la masse d'acide non entraîné A_2 soit aussi petite que l'on veut.

Soit f la valeur du rapport $\frac{A_2}{A_1}$ au-dessous de laquelle on se propose de rester.

On veut donc avoir $\frac{A_2}{A_1} \leq f$

Or, $A_2 = A_1 - Y$ donc : $\frac{A_1 - Y}{A_1} \leq f$

et $L \frac{A_1 - Y}{A_1} \leq L\, f$

D'autre part, $L \frac{A_1 - Y}{A_1} = -\frac{KN}{M}$

Donc $-\frac{KN}{M} \leq L\, f$ ou $K \frac{N}{M} \geq -L\, f$

d'où $N \geq -\frac{M}{K} L\, f$;

soit en passant des logarithmes népériens aux logarithmes vulgaires :

$$N \geq -2{,}303 \frac{M}{K} \log f$$

ou $$N \geq 2{,}303 \frac{M}{K} \log \frac{1}{f}$$

Pour obtenir donc un entraînement tel que le rapport de la masse de substance volatile non entraînée à la masse totale soumise à l'entraînement soit inférieur à une valeur f, il faut distiller une masse de liquide N proportionnelle à la masse de liquide M soumis à l'entraînement, inversement proportionnelle au coefficient de distil-

lation K mais indépendante de la masse de substance volatile à distiller.

Pour l'entraînement de l'arsenic à l'état d'hydrogène arsénié :

M représente le volume de liquide mis dans le générateur ;

N le volume d'hydrogène dégagé ;

A_1 et A_2 les masses d'arsenic respectivement dans le liquide du générateur avant et après la distillation.

En vue de vérifier si cette théorie était applicable à l'arsenic dans le cas de la méthode de Marsh (*), Rivemale a calculé la valeur du coefficient de distillation (**) (qu'il appelle « coefficient de passage de l'arsenic dans l'hydrogène ») dans diverses conditions opératoires et a vérifié que sa valeur était **constante** et égale à 0,065, étant indépendante de :

— la concentration en arsenic,

— le volume de la solution arsenicale soumise à distillation,

— la surface d'attaque du zinc,

— la hauteur du parcours de l'hydrogène dans le liquide.

En revanche, il dépend :

— de la concentration en SO_4H_2 du milieu, variant en raison inverse de celle-ci,

— légèrement de la température, augmentant avec elle,

— de l'activation du zinc qui lui est défavorable,

— de la valence de l'arsenic soumis à l'hydrogénation, s'abaissant à 0,04 avec l'arsenic pentavalent.

Il conclut que la théorie est parfaitement applicable au cas de l'arsenic et, en particulier, que, s'il est impossible de recueillir dans l'anneau ou la tache la totalité de ce corps, on peut toujours, en faisant dégager un volume d'hydrogène suffisant, arriver à recueillir 99 p. 100 de l'arsenic de la prise d'essai. En effet, si $A_1 = 100$ et $A_2 = 1$ on aura $f = \frac{1}{100}$

et le volume d'hydrogène à distiller devra être :

$$N \geq 2{,}303 \frac{M}{K} \log 100$$

(*) Les conclusions ont été également généralisées à la méthode de Cribier et à toutes les méthodes utilisant la production et la distillation d'arsine.

(**) On calcule K à partir de la formule (1) ; on obtient :

$$K = 2{,}303 \log \frac{A_1}{A_1 - Y} \frac{M}{N}$$

Comme K est au moins égal à 0,06 :

$$N \geq 2{,}303 \frac{M}{0{,}06} .2$$

$$N \geq 77\ M$$

Donc, pour recueillir dans un anneau ou une tache au minimum 99 p. 100 de l'arsenic en solution, le volume d'hydrogène dégagé doit être au moins égal à 80 fois le volume de la solution, ceci pour l'arsenic à la valence + 3. Pour l'arsenic pentavalent, on trouverait de même que ce volume d'hydrogène doit être supérieur à 115 fois le volume de la solution.

Quelques années plus tard, Jaulmes [45] montra également que le coefficient de passage ne dépendait pas du moyen de production de l'hydrogène (méthode électrolytique ou par action de ClH ou SO_4H_2 sur le zinc).

En appliquant sa théorie à la méthode de Cribier classique, il montra par le calcul que l'on ne **pouvait au maximum espérer recueillir que 80 p. 100 de l'arsenic mis en œuvre** (*). Si l'on opère dans les mêmes conditions, mais à partir **d'arsenic à la valence +3, on peut espérer atteindre 93,5 p. 100.**

Tenant compte dans la pratique de ses calculs, Jaulmes avec Turpin [47], puis avec M^lle Hamelle [46], a mis au point une méthode de dosage de l'arsenic inspirée du procédé de Cribier (**).

Pour notre future expérimentation, nous avons retenu de cette théorie, de sa vérification et de ses applications pratiques les conclusions suivantes :

1) il y avait intérêt à partir d'une solution initiale de **volume aussi réduit que possible;**

2) **l'introduction d'acide** dans l'appareil devait se faire **par fractions** durant tout le temps de l'opération de manière à maintenir le taux d'acide le plus bas possible, tout en assurant une vitesse de dégagement de l'hydrogène suffisante;

3) **l'augmentation de température du milieu réactionnel n'était pas une gêne, bien au contraire** (sauf en milieu sulfurique où cet acide peut être réduit en SH_2);

4) il était **intéressant** d'opérer sur de **l'arsenic à la valence +3** et non pas oxydé à l'état pentavalent;

5) **enfin l'activation du zinc était défavorable.**

(*) Rappelons que Griffon et Buisson [35] ont déterminé que seulement 20 à 30 p. 100 de l'arsenic était fixé dans le papier.

(**) Cf. tableau p. 19.

SECTION V

METHODE DE LA PHARMACOPEE INTERNATIONALE ET METHODES ANGLO-SAXONNES

Ces méthodes, étroitement apparentées entre elles, offrent les caractéristiques suivantes :

— **réduction de l'arsenic à la valence +3** avant d'effectuer son hydrogénation;

— utilisation d'un **volume réactionnel inférieur** à celui de la méthode de **Cribier;**

— formation et distillation de l'hydrogène arsénié à une **température généralement supérieure** à celle du laboratoire (*).

Nous exposerons ces méthodes avec quelques détails car nous les avons étudiées comparativement à la technique de Cribier au point de vue de leur rendement en arsenic distillé.

A) METHODES DE LA PHARMACOPEE INTERNATIONALE ET DE LA BRITISH PHARMACOPOEIA

Elles sont pratiquement identiques à deux détails près et la méthode de la Pharmacopée Internationale est visiblement inspirée de celle de la Pharmacopée britannique.

La Pharmacopée Internationale [72] propose deux procédés au choix pour l'essai limite de la teneur en arsenic des médicaments :

— La méthode A qui est celle que nous allons étudier.

— La méthode B utilisant la réduction de l'arsenic par un réactif hypophosphoreux chlorhydrique (**)

La méthode A donc, dispose d'un flacon à large ouverture de 120 ml environ, muni d'un bouchon de caoutchouc à travers lequel passe un tube de verre de 200 mm de long et 6,5 mm de diamètre intérieur, terminé à sa partie inférieure à la façon du tube à dégagement de Cribier. A l'extrémité supérieure de ce tube, un bouchon de caoutchouc percé d'un trou de 6,5 mm de diamètre est disposé de manière à ce que sa face supérieure soit exactement dans le plan de la section droite tangente à l'extrémité du tube. Sur ce bouchon est disposé un deuxième bouchon identique et tous deux sont maintenus étroitement serrés par un lien de caoutchouc ou une pince à ressort.

(*) Ce qui est possible car elles utilisent l'action de ClH sur du zinc et donc n'ont pas à craindre la formation de SH_2 par réduction de SO_4H_2 à température relativement élevée.

(**) Cependant le rapport des travaux de 1958 du Comité d'experts de la Pharmacopée Internationale émet le vœu que seule la première, qui semble meilleure, soit conservée dans la deuxième édition de cet ouvrage [25].

On place dans la partie inférieure du tube à dégagement une bande de papier à l'acétate de plomb AsT (*) roulée de manière à former un cylindre de 100 mm de longueur. Le papier réactif est un morceau de papier filtre trempé dans une solution saturée de Cl_2Hg puis séché ; il est disposé entre les deux bouchons (**).

La prise d'essai contenant l'arsenic est diluée à 50 ml par de l'eau distillée et additionnée de 10 ml d'acide chlorhydrique stanneux AsT (***).

La « solution à examiner » ainsi préparée (****) est introduite dans le flacon générateur ; on ajoute 10 g de zinc AsT en grenaille et met rapidement en position le tube à dégagement garni. Au bout de 40 minutes on arrête la réaction et compare l'intensité de la tache obtenue à celle d'une gamme-étalon récemment préparée (*****).

La Pharmacopée conseille d'opérer en plaçant le fond de l'appareil sur une plaque chauffée à + 40° C, sans imposer toutefois cette température qui peut être adaptée de façon à ce que le dégagement des gaz soit régulier.

La méthode de la British Pharmacopoeia [84] est presque identique à la précédente ; les seules différences sont :

— l'emploi comme épurateur des gaz d'un morceau de coton imprégné de solution d'acétate de plomb et desséché.

— l'addition à la solution à examiner de 1 g de IK comme adjuvant de réduction supplémentaire.

B) METHODES DE L'A.O.A.C. (******) ET DE LA PHARMACOPEE AMERICAINE

Les modes opératoires de ces deux méthodes sont également calqués l'un sur l'autre et ne diffèrent que par quelques détails. Elles sont caractérisées essentiellement par un volume encore plus réduit de la solution réagissante (40 ml) et par l'emploi de papier au bromure mercurique sous forme de bandes.

La méthode de l'A.O.A.C. [68] utilise comme générateurs des flacons de 50 ml à large ouverture. Ces flacons sont en relation par

---

(*) Arsenic-test : réactif préparé selon les indications de la pharmacopée et satisfaisant à l'essai limite de présence de l'arsenic prescrit.

(**) C'est donc une méthode utilisant un disque de papier réactif, ce qui présente un gros inconvénient eu égard au risque de saturation du papier par l'arsine.

(***) Ce réactif est préparé de la façon suivante : on effectue tout d'abord du chlorure stanneux en chauffant à feu doux 20 g d'étain pur avec 60 ml de ClH fumant et 20 ml d'eau jusqu'à cessation du dégagement gazeux. On complète alors à 100 ml avec de l'eau et conserve sur étain.

Dilué de moitié à l'aide de ClH fumant et réduit par ébullition à son volume initial, puis filtré, ce chlorure stanneux constitue la solution de Cl_2Sn AsT.

Enfin en additionnant 1 p. 100 de cette dernière solution à du ClH fumant, on obtient l'acide chlorhydrique stanneux AsT.

(****) Son volume total est donc de 60 ml au lieu de 75 ml pour la méthode de Cribier.

(*****) Cette méthode, ainsi que celle de la pharmacopée anglaise, ignore complètement la fixation et la révélation de la tache, ce qui oblige pratiquement à effectuer une gamme-étalon pour chaque série d'essais.

(******) Cf. note p. 20.

l'intermédiaire d'un bouchon rodé avec un premier tube de verre de 10 mm de diamètre intérieur et 60 mm de long. Ce premier tube est destiné à recevoir le système épurateur des gaz constitué par un morceau de laine de verre surmonté de 4 g de sable mouillé par une solution à 10 p. 100 d'acétate de plomb et essoré. A sa partie supérieure ce premier tube est connecté par l'intermédiaire d'un bouchon rodé avec un deuxième tube plus étroit (2,6 mm de diamètre) de 120 mm de long. Ce dernier va recevoir la bande de papier test.

Celle-ci est préparée en immergeant des bandes de papier filtre de 2,5 mm de large exactement, préalablement desséchées 1 heure à + 105° C dans une solution alcoolique à 5 p. 100 de Br_2Hg. Les bandes de papier sont ensuite séchées et conservées au maximum deux jours dans un endroit sec.

Le tube à dégagement étant ainsi garni, la prise d'essai est introduite dans le générateur et diluée à 30 ml avec de l'eau distillée. On ajoute 5 ml de ClH concentré pur et refroidit si nécessaire. Puis on introduit 5 ml de solution à 15 p. 100 de IK et IV gouttes d'une solution à 40 p. 100 de Cl_2Sn dans ClH concentré.

On laisse la réduction de l'arsenic à l'état d'ion arsénite s'opérer en abandonnant 30 minutes à + 25° C ou en chauffant 5 minutes à + 90° C. On refroidit et dilue à 40 ml.

On introduit ensuite dans le générateur 15 g de zinc en bâtons (préalablement activé par immersion dans du ClH stanneux dilué) ou 5 g de zinc granulé, coiffe immédiatement le flacon du système à dégagement et laisse la réaction s'effectuer, l'appareil étant plongé dans de l'eau à + 20° + 25° C. Au bout de 1 h. 30, on prélève le papier réactif et compare la longueur de la tache avec une gamme-étalon préparée en même temps que l'essai (*).

La Pharmacopée américaine [85] utilise un appareil identique avec, cependant, un tube épurateur de longueur double de celui de l'A.O.A.C. Ce tube peut être garni de sable à l'acétate de plomb ou de coton imprégné de ce même réactif et essoré mais non desséché. Le diamètre intérieur du tube recevant le papier réactif est moins rigoureusement fixé que dans la méthode précédente (2,5 à 3 mm). Quant au papier lui-même, il est identique à celui utilisé par l'A.O.A.C.

Le procédé prévoit deux phases dans le déroulement des opérations :

1° **Phase préparatoire permettant de réduire l'arsenic à la valence + 3.** — Pour cela, on place dans le générateur 5 ml de solution de IK TS (**), 5 ml de l'échantillon à examiner (qui, signalons-le, contient souvent une petite quantité de SO_3H_2 provenant de son mode de préparation) et 5 ml d'acide chlorhydrique stanneux TS (***). On abandonne alors le tout 10 minutes à la température ambiante.

2° **Distillation de l'arsine.** — Au bout de ce temps on ajoute 25 ml d'eau et 1,5 g de zinc granulé et coiffe immédiatement le générateur de son système à dégagement. On immerge le premier dans de l'eau à + 25° C et prélève le papier réactif au bout d'une heure de dégagement. La pharmacopée conseille d'effectuer la comparaison avec les étalons immédiatement mais prévoit tout de même, dans un but de stabilisation des taches, de plonger les papiers dans de la paraffine fondue ou de les conserver sur de l'anhydride phosphorique à l'abri de la lumière.

(*) Ce qui complique singulièrement la méthode. Notons également que rien ici non plus n'a été prévu pour la stabilisation des taches.

(**) Cf. note p. 43, solution de IK à 16,5 p. 100.

(***) Préparation de ce réactif en mélangeant 8 g de chlorure stanneux TS avec 500 ml de ClH fumant. Le chlorure stanneux TS est lui-même préparé en dissolvant 1,5 g de Cl_2Sn dans 500 ml d'eau chlorhydrique ; il est conservé sur étain.

Les étalons sont préparés avec les mêmes réactifs et dans les mêmes conditions, à partir d'une solution standard de As_2O_3 ; cependant, le temps mort de 10 minutes à la température ordinaire est supprimé ; il n'a pas, en effet, de raison d'être puisque l'arsenic est déjà à la valence + 3.

Toutes ces méthodes, rappelons-le, ne sont pas parfaites :

a) les taches obtenues **ne sont pas rigoureusement spécifiques** (interférence de l'antimoine) ;

b) les longueurs ou intensité de taches **ne sont pas en relation linéaire** avec la quantité d'arsenic dégagé ; leur mesure, malgré les perfectionnements apportés, est encore aléatoire ;

c) pour une même quantité d'arsenic distillé, **la tache sera influencée par la vitesse du dégagement**, laquelle est fonction de variables et de facteurs qu'il n'est pas toujours possible de définir et de maîtriser.

Ces méthodes sont utiles pour la pratique de **tests limites** et l'établissement de **critères de pureté** (essais de médicaments, produits chimiques, denrées alimentaires, etc.) mais pour réaliser une expertise toxicologique vraie où la précision doit s'allier à la spécificité, nous avons préféré nous adresser à la **méthode polarographique**. Elle sera notre instrument d'identification et de dosage de l'arsenic dégagé dans un générateur à hydrogène naissant et fixé sur un papier réactif.

BIBLIOGRAPHIE

[1]. — Allcroft R. et Green H. : Biochem. J., 1935, *29*, 824.

[2]. — Bach R.O. : Anales Assoc. quim. Argentina., 1949, *37*, 274.

[3]. — Balavoine P. : Mitt. Lebens. Hyg., 1945, *36*, 282.

[4]. — Bambach K. : Ind. Eng. Chem., 1942, *14*, 265.

[5]. — Barral E. : Précis d'analyse chimique quantitative, Baillère éd. Paris, 1927.

[6]. — Barthe L. et Massy R. : Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1926, *64*, 66.

[7]. — Batalin A. : Zhur. Anal. Khim. (U.R.S.S.), 1950, *5*, 123.

[8]. — Berton A. : Bull. Soc. Chim., 1945, *12*, 296.

[9]. — Bird : Pharm. J., 1904, 424.

[10]. — Bloch J.M. et Antoine M. : Bull. Soc. Pharm. Nancy, 1957, *33*, 10.

[11]. — Bystrov S.P. et Parshicov Yn. I. : Aptechnoe Delo (Moscou), 1957, *6*, 38.

[12]. — Cassil C.C. : J. Ass. official Agr. Chemists, 1941, *24*, 196.

[13]. — Cassil C.C. et Wichmann C.C. : *Ibid.*, 1939, 22, 436.

[14]. — Castagnou R. et Faure J. : Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1952, *90*, 90 et 1953, *92*, 169.

[15]. — Castagnou R. et Faure J. : *Ibid.*, 1953, *91*, 115.

[16]. — Chundela B. et Vorel F. : Casopsis lekaru ceskych (Prague), 1957, *96*, 113.

[16 bis]. — Codex médicamentarius gallicus : Ordre National des Pharmaciens ed. Paris, 7e édition, 1949.

[17]. — Cribier J. : Sur la recherche de l'arsenic disséminé dans les médicaments chimiques - Thèse Pharmacie Paris, 1921.

[18]. — Cribier J. : J. Pharm. Chim., 1921, *24*, 241.

[19]. — Cristau B. : Dosage toxicologique de l'arsenic par spectrophotométrie et polarographie - Thèse Sciences (Université), Marseille, 1958, p. 69.

[20]. — Cristau B. : Bull. Soc. Chim., 1958, *19*, 717.

[21]. — Crossley H.E. : J. Soc. Chem. Ind., 1936, *55*, 272.

[22]. — Darniat P. : Recherches sur le passage de l'arsenic dans le lait humain après arsénothérapie - Thèse Pharmacie (Université), Lyon, 1931.

[23]. — DELABY R. et FERRAND P. : Bull. Soc. Chim., 1945, *12*, 140.
[24]. — DENIGES G. : Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1930, *68*, 207.
[25]. — Documents de l'Ordre National des Pharmaciens, 1959, n° 1.114, p. 9.
[26]. — EVANS J. et BANDEMER S.L. : Anal. Chem., 1954, *26*, 595.
[28]. — FAURE J. : Dosage toxicologique de l'arsenic et de l'antimoine seuls ou en mélange après hydrogénation électrolytique - Thèse Pharmacie (Diplôme d'Etat), Bordeaux, 1953.
[29]. — FERENCZ G. : Tribuna Farm. (Brésil), 1949, *17*, 63.
[30]. — FISCHER R. et LANGHAMMER T. : Mikrochemie ver. Mikrochim. Acta 1949, *34*, 203.
[31]. — FUKAMAUCHI H. et OBATA S. : J. Pharm. Soc. Japan, 1954, *74*, 881.
[32]. — GATEHOUZE : Chem. News, 1873, *27*, 139.
[32 bis]. — GOMEZ-CASTILLO : Anales Quim. Farm., 1944, *30*, 2.
[33]. — GONZALES T.A., VANCE M., HECPERN M. et UMBERGER C.J. : Legal Medicine Pathology and Toxicology - A.C.C. ed, New-York, 1954, p. 988.
[34]. — GRIFFON H. : J. Med. Bordeaux, 1957, *134*, 659.
[35]. — GRIFFON H. et BUISSON M. : Bull. Soc. Chim., 1933, *53*, 1.548.
[36]. — GRIFFON H. et BUISSON M. : *Ibid.*, 1934, *1*, 815.
[37]. — GRIFFON H. et THURET J. : *Ibid.*, 1938, *5*, 1.129.
[38]. — GUTZEIT G. : Pharm. Ztg., 1879, *24*, 263.
[39]. — GUTZEIT G. : Helv. Chim. Acta., 1929, *12*, 829.
[40]. — HAIGT G.P. : Anal. Chem., 1954, *26*, 593.
[41]. — HOFFMANN : Anal. der Chem. u Ph., 1860, *115*, 286.
[42]. — Hommage au Doyen René Fabre : Sedes ed. Paris, 1956. Art. CELSI A., p. 55.
[43]. — HOW A.E. : J. Ind. Eng. Chem., 1938, *10*, 226.
[44]. — JAULMES P. : Bull. Soc. Chim., 1937, *4*, 157.
[45]. — JAULMES P. : Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1952, *90*, 281.
[46]. — JAULMES P. et HAMELLE G. : Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 1953, *13*, 169.
[47]. — JAULMES P. et TURPIN A. : *Ibid.*, 1948, *4*, 85.
[48]. — JEKEL E. : Osterr. Apoth. Ztg., 1949, *3*, 29.
[49]. — JURECEK M. et JENIK J. : Chem. Listy, 1954, *48*, 1.771.
[50]. — JURECEK M. et JENIK J. : *Ibid.*, 1955. *49*, 264.
[51]. — KITAMURA T. : Eisei Kogaku (Yokohama), 1957, *4*, 9.
[52]. — KOBAYASHI, Y., YAMADA T., KANNO S., FUKUI S. et KAWAMURA T. : Kogyo Kogaku Zasshi (Yokohama), 1956, *59*, 889.
[53]. — KRYLOVA A.N. : Aptechnoe Delo (Moscou), 1956, *5*, 29.
[54]. — LEONARDON M. et DELEPINE : Bull. Sci. Pharm., 1924, *31*, 193.
[55]. — LEWY G.A. : Biochem. J., 1943, *37*, 598.

[56]. — Liederman D., Bowen J.E. et Milner O.I. : Anal. Chem., 1959, *31*, 1.589.
[57]. — Linard : Recherche sur l'élimination de l'arsenic - Thèse Pharmacie (Université), Lyon, 1930.
[53]. — Lockemann : Z. f. Angew. Chem., 1905, 429 et 491.
[59]. — Mac Chesney E.W. : Anal. Chem., 1949, *21*, 880.
[60]. — Manceau M., Griffon H. et Nicolas : Ann. Fals. Fraudes, 1938, *384*, 262.
[61]. — Marsh J. : Edimburg new Philosoph. J. - octobre 1836, Annal. der Pharm., 1837, *22*, 207, et J. Pharm., 1837, *23*, 553.
[62]. — Martin et Pien J. : Bull. Soc. Chim., 1930, 47, 646
[63]. — Mayençon et Bergeret : C.R., 1874, *79*, 118.
[64]. — Mayrand L.P. : J. Am. Pharm. Assoc., 1931, *20*, 632.
[65]. — Mokranjac M. St. et Rsajski B. : Acta Pharm. Jugoslav., 1952, *2*, 9.
[66]. — Morin C. : Ann. Pharm. Fr., 1955, *13*, 17.
[67]. — Nazarenko V.A. et Byk G.I. : Ukrain. Khim. Zhur., 1956, *22*, 234.
[68]. — Official methods of analysis of the AOAC : W. Howitz ed., Washington, 8 th édition 1955, p. 396.
[69]. — Oliver W.T. et Funnel H.S. : Anal. Chem., 1959, *31*, 259.
[70]. — Pascal P. : Nouveau traité de Chimie minérale, Masson et C^ie^, ed. Paris, 1958, IX, monographie de Dolique R., p. 99.
[71]. — Pascal P. — *Ibid.*, p. 386.
[72]. — Pharmacopoeia internationalis : Masson et C^ie^ ed., Paris, 1^re^ édition, 1951, *1*, p. 311.
[73]. — Reckleben et Lockmann : Zeit. f. Angew. Chem., 1906, *19*, 275, et Zeit. ann. chem., 1908, *47*, 105.
[74]. — Reichardt : J. Pharm. Chim., 1881, *3*, 247.
[75]. — Rivemale Y. : Sur l'appareil de Marsh - Thèse Pharmacien supérieur, Montpellier 1939.
[76]. — Riou P. et Pare J.J. : Ann. l'Acfas, 1942, *8*, 77.
[77]. — Rogers D. et Herow A.E. : Analyst, 1946, *71*, 414.
[78]. — Rose H. : Pogg. Ann., 1840, *51*, 423.
[79]. — Sanger : Amer. Chem. J., 1891, *13*, 431, et Zeit. f. Angew. Chem., 1899, *38*, 137 et 377.
[80]. — Sanger et Black : J. Soc. Chem. Ind., *26*, 1.115, et Moniteur Scient., 1909, 112.
[81]. — Simon S. : J. Pharm. Belg., 1956, *11*, 262.
[82]. — Snijders C.J. et Van der Drift A.W. : Pharm. Weekblad., 1935, *32*, 275.
[83]. — Soos P. et Selenyi Z. : Conf. Natl. Farm. Bucharest, 1958, 130.
[84]. — The British Pharmacopoeia : The pharmaceutical press ed., London, 1958, p. 850.

[85]. — The Pharmacopoeia of the U.S.A. : Mack printing C° ed., Easton, 5th édition, 1955, p. 893.
[86]. — Thoma K., Shontag A. et Kuchinke E. : Arch. exptl. Pathol. Pharmakol., 1955, *226*, 255.
[87]. — Thoral L. : Recherches sur la fixation et l'élimination de l'acétylarsan, Thèse Pharmacie (Université), Lyon, 1925.
[88]. — Thorpe T.E. : Proc. Chem. Soc., 1903, *19*, 183, et Chem. News, 1903, *11*, 7.
[89]. — Torrinha J.F.S. : J. Farm., 1946, *5*, 209.
[90]. — Treadwel F.P. : Manuel de Chimie analytique, Dunod ed., Paris, 1934, 2, p. 200.
[91]. — Truffert L. : Ann. Fals. Fraudes, 1938, *350*, 73.
[92]. — Vasak V. et Sedivec V. : Chem. Listy, 1952, *46*, 341.
[93]. — Vial de Sachy H. : Chim. Anal., 1956, *38*, 435, et Ann Fals Fraudes, 1957, *50*, 53.
[94]. — Winckler L. : Zeit. f. Angew. Chem., 1917, *30*, 113.

CHAPITRE II

TRAVAUX ANTERIEURS SUR LA POLAROGRAPHIE DE L'ARSENIC ET DE L'ANTIMOINE

Section I

LA METHODE POLAROGRAPHIQUE

L'analyse polarographique fut mise au point en 1922 par le professeur Jaroslav Heyrovsky (*) à l'Université Charles à Prague [43]. Le polarographe enregistreur lui-même est l'œuvre de sa collaboration avec Shikata [49]. Depuis, cet auteur n'a cessé de perfectionner sa méthode tout en cherchant les bases théoriques des phénomènes observés [45, 46].

Ce procédé d'électroanalyse est encore assez peu pratiqué en France; sa théorie et ses applications n'ont fait l'objet que d'un petit nombre de travaux [18, 19, 101, 102, 108]. En revanche, il semble connaître un succès croissant en Tchécoslovaquie, aux U.S.A., en U.R.S.S. et en Italie pour ne citer que ces pays [53, 66, 76, 99, 100].

La polarographie est une méthode d'analyse consistant à tracer et à interpréter les courbes courant-tension obtenues par électrolyse d'un corps électro-réductible ou oxydable entre une électrode polarisable (en général à gouttes de mercure) et une électrode non polarisable.

(*) J. Heyrovsky a obtenu en 1959 le prix Nobel pour ses travaux.

A) THEORIE SOMMAIRE DE L'ELECTROLYSE

Dans un but de simplification, nous allons raisonner sur des ions dans la suite de cet exposé, quoique des molécules non ionisées soient susceptibles de donner naissance à des phénomènes en tous points semblables à ceux que nous allons décrire.

Il est bien connu qu'une réaction d'oxydation ou de réduction correspond à un échange d'électrons entre un oxydant et un réducteur.

$$Red \leftrightharpoons Ox + n\,e$$

Ces électrons peuvent être échangés entre deux ions en solution: on est alors en présence d'une réaction chimique ; ou entre un seul ion et un conducteur électrique plongeant dans la solution : on a affaire à une réaction électro-chimique.

Si l'on impose entre deux conducteurs inattaquables plongeant dans une même solution, une différence de potentiel E convenable, à l'une des deux électrodes, l'ion sera oxydé :

$$Red \rightarrow Ox + n\,e$$

et les électrons libérés captés par l'électrode ; ils circuleront dans le circuit extérieur en sens inverse du courant et, arrivés à l'autre électrode, seront cédés à l'ion sous sa forme oxydée qui sera réduite :

$$Ox + n\,e \rightarrow Red$$

L'électrode où a lieu l'oxydation est l'anode et celle où se fait la réduction la cathode.

La cuve où se produit une telle électrolyse est donc le siège de deux phénomènes :

— **réactions électrochimiques d'oxydation et de réduction aux électrodes** (échange de charges électriques entre la solution et les électrodes).

— **déplacement de matière assurant le transport des charges à l'intérieur de la solution.**

L'ensemble de ces deux phénomènes assure la production d'un courant électrique : le courant d'électrolyse.

1. — Ces deux processus se font avec une vitesse finie. Considérons cependant, tout d'abord, le cas hypothétique où les **deux vitesses sont infinies.** Si un seul conducteur est plongé dans la solution contenant le système oxydo-réducteur, un échange incessant d'électrons a lieu entre le fil et les ions et il s'établit finalement un équilibre au cours duquel l'échange avec l'électrode :

$$Ox + n\,e \rightarrow Red$$

se fait à la même vitesse que l'échange inverse :

$$Red - n\,e \rightarrow Ox.$$

Alors la composition de la solution au voisinage de l'électrode ne change plus et le fil prend un potentiel d'équilibre donné par la formule de Nernst :

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} L \frac{[Ox]}{[Red]}$$

où E_0 est le potentiel normal du système oxydo-réducteur.

Si l'on impose à l'électrode un potentiel E' différent de E, l'équilibre entre le conducteur et la solution est rompu et des électrons sont échangés jusqu'à ce que le potentiel de la solution redevienne égal à celui imposé à l'électrode.

Si E' est plus grand que E, l'oxydation se produira :

$$Red - ne \rightarrow Ox$$

et le conducteur fonctionnera comme anode.

Au contraire, si E' est plus petit que E, il y aura réduction :

$$Ox + ne \rightarrow Red$$

l'électrode jouant le rôle de cathode.

2. — Supposons maintenant que, **seuls, les échanges d'électrons se fassent avec une vitesse finie,** les transports de matière dans la solution étant toujours infiniment rapides.

Les réactions électrochimiques ne pourront se produire que dans la mesure où les corps électrolysés qui disparaissent sont renouvelés à la surface de l'électrode ; nous supposons donc, du fait de la vitesse infinie des déplacements de matière, **qu'à tout instant la composition de la solution est la même au voisinage de l'électrode et au sein du vase à électrolyse.**

Considérons, pour simplifier l'exposé, une solution ne contenant que des ions à leur valence maxima : Ox, par exemple. Nous ne nous occuperons également que des phénomènes ayant lieu à une seule électrode. Nous voulons donc réaliser à celle-ci une réduction :

$$Ox + ne \rightarrow Red$$

et l'électrode devra fonctionner comme cathode.

Dans ces conditions, si l'on fait décroître progressivement le potentiel imposé, on constate :

— **le courant d'électrolyse est d'abord nul,** jusqu'à une tension E qui n'est autre que le potentiel d'équilibre du système.

— à partir de cette tension appelée tension de décomposition, l'électrolyse commence et la réaction de réduction a lieu ; **l'intensité du courant d'électrolyse croît alors très rapidement** en valeur absolue et indéfiniment, la courbe $i = f(E)$ est pratiquement une droite et dans cette portion de la courbe l'électrolyte obéit à la loi d'Ohm $E = Ri$; à mesure que l'intensité augmente, un nombre croissant d'ions est réduit par unité de temps ; ils disparaissent donc sous leur forme électro-réductible au voisinage de l'électrode, mais sont remplacés constamment et nombre pour nombre grâce à la vitesse infinie des mouvements de matière ; l'existence de ces deux branches de pentes différentes dans la courbe s'explique facilement [87] : dès que l'on établit une différence de potentiel entre les électrodes, les ions, en se déchargeant, créent à la surface de l'électrode une couche d'ions réduits et provoquent ainsi la formation d'une pile. Celle-ci fournit une force contre-électromotrice s'opposant à la force électromotrice extérieure imposée, et la décomposition ne commencera, engendrant un courant d'électrolyse, que lorsque la tension appliquée sera égale à la force contre-électromotrice de la pile ainsi créée par l'électrolyse.

Dans un tel processus **l'électrode est dite impolarisable,** les réactions électrochimiques s'effectuant constamment à son niveau pendant toute la durée de l'électrolyse car le milieu à son contact est toujours identique à lui-même.

3. — Envisageons, enfin, le cas réel où **les réactions électrochimiques et les transports de matière** dans la solution se font tous deux **à une vitesse finie.**

Nous avons vu, lors de l'exposé de l'hypothèse précédente, que, dans la portion ohmique de la courbe, le nombre d'ions réduits par unité de temps à l'électrode augmentait avec l'intensité du courant. Il en est de même ici, mais la migration des ions Ox depuis le sein de la solution pour remplacer ceux qui sont réduits à l'électrode se fait à vitesse finie ; à partir d'une certaine tension cette vitesse sera inférieure à la vitesse de la réduction électrochimique, ce qui entraînera une diminution de la concentration des ions électrolysés au voisinage de l'électrode et l'apparition d'un **gradient de concentration** entre sa surface et le sein de la solution. Du fait de l'établissement de ce gradient, les espèces contenues dans les milieux les plus concen-

très diffuseront vers l'électrode pour modérer l'hétérogénéité qui s'est établie.

En conséquence, la courbe courant-tension présentera trois portions successives :

— une partie pour laquelle **le courant d'électrolyse est nul** ou ne croît que faiblement, suivie, à partir de la tension E_{min}, **d'une croissance rapide et pratiquement linéaire de l'intensité** comme dans le cas précédent.

— mais cette portion à croissance rapide est limitée : à partir de la valeur E_{max} de la tension, **le courant ne croît plus que faiblement et tend vers une limite** i_∞ dépendant de la concentration de l'électrolyte en solution (fig. 1).

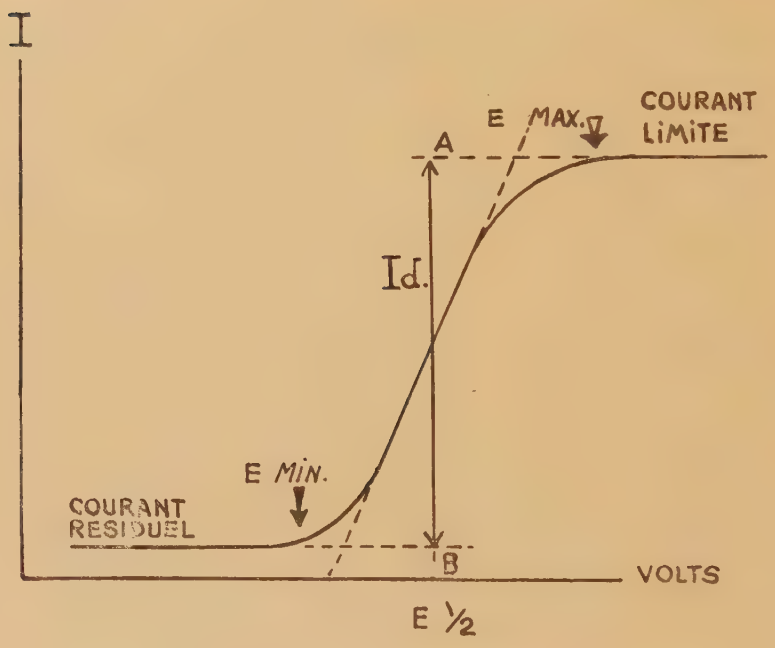

FIGURE 1

Variation du courant d'électrolyse en fonction du potentiel imposé à l'électrode polarisable (cas réel).

Mesure de la valeur du courant de diffusion.

Les causes de ce dernier phénomène sont les suivantes :

— à mesure que la valeur absolue de la tension croît, le nombre d'ions réduits à l'électrode augmente ; de ce fait, la concentration de la couche de liquide au voisinage de l'électrode diminue de plus en plus, ce qui entraîne à la fois dans cette région un déficit en charges + et un déficit en matière supportée par les ions Ox. Alors ces ions se déplaceront depuis les milieux plus concentrés vers cette zone, d'une part parce qu'ils sont des particules chargées attirées par la cathode, tendant ainsi à compenser le déficit en charges électriques (**ils créeront un courant de migration**), et, d'autre part, parce

qu'ils sont des particules matérielles ayant toujours tendance à occuper tout le volume qui leur est offert et modérant ainsi l'hétérogénéité de la zone appauvrie (**ils seront alors responsables d'un courant de diffusion**). Mais lorsque l'électrolyse est suffisamment rapide pour que la concentration des ions Ox au voisinage de l'électrode ait tendance à s'annuler, les vitesses de déplacement des ions par migration ou par diffusion ne pouvant augmenter au delà d'une valeur limite, le courant d'électrolyse sera nécessairement limité par ces vitesses elles-mêmes. **L'électrode est alors polarisée.**

La valeur i_r du courant pour la tension E_{min} est appelée **courant résiduel** et la valeur i_∞, **courant limite.**

En définitive, dans les conditions normales, le vase à électrolyse est parcouru par deux courants : **un courant de migration et un courant de diffusion.** Le courant limite d'électrolyse est la somme de ces deux fractions de courant :

$$i_\infty = i_D + i_M \quad [18, 60]$$

B) APPLICATION DE L'ELECTROLYSE : RELATIONS ENTRE LE COURANT DE DIFFUSION ET LA CONCENTRATION DE LA SOLUTION. UTILISATION POUR LES DOSAGES POLAROGRAPHIQUES

En polarographie, l'électrolyse s'effectue entre une électrode de faible surface, polarisable (fil de platine ou plus fréquemment électrode à gouttes de mercure) et une électrode à grande surface impolarisable (lac de mercure au fond du vase ou le plus souvent électrode normale au calomel qui sert de référence). Ainsi toutes les réactions électrochimiques utilisées pour la mesure s'effectueront au niveau de la première qui se polarisera instantanément donnant naissance à des phénomènes de polarisation bien définis en raison de la grande densité de courant à sa surface.

En utilisant l'électrode à gouttes, les courbes obtenues seront d'une reproductibilité parfaite car, chaque fois qu'une goutte tombe, il y a élimination totale de la substance déposée et retour à l'état initial. Avec l'électrode de platine, on sera obligé de faire vibrer cette électrode pour que les courants de convection ainsi créés réduisent la polarisation quasi instantanée qui se produirait si le fil était immobile.

Selon les potentiels imposés (*) une telle électrode polarisable pourra fonctionner comme cathode ou comme anode et l'on obtiendra à son niveau des phénomènes de réduction ou d'oxydation.

Dans la méthode polarographique, **les ions susceptibles d'être oxydés ou réduits à l'électrode sont toujours à concen-**

(*) Le potentiel normal de l'électrode au calomel étant pris comme origine.

tration faible au sein d'un grand excès d'un électrolyte indifférent **ne participant pas** à **l'électrolyse** dans la gamme des potentiels où l'on opère. De ce fait, la concentration de ce dernier reste toujours sensiblement constante dans tout le vase à électrolyse, y compris au voisinage de l'électrode; pour lui, **la diffusion sera nulle** et il participe seulement au transport des charges par migration; au contraire, vu leur faible concentration relative, la contribution des ions électrolysés à ce mode de transport devient négligeable. Seuls ils disparaissent à l'électrode durant l'électrolyse et cette disparition s'accélérant au fur et à mesure de l'augmentation du potentiel imposé, leur concentration à ce niveau tendra rapidement à s'annuler ; l'électrolyse ne pourra se produire alors que parce **qu'ils se renouvellent au voisinage de l'électrode par diffusion** depuis les régions plus concentrées (fig. 2).

concentration faible au sein d'un grand excès d'un électrolyte indiffé-

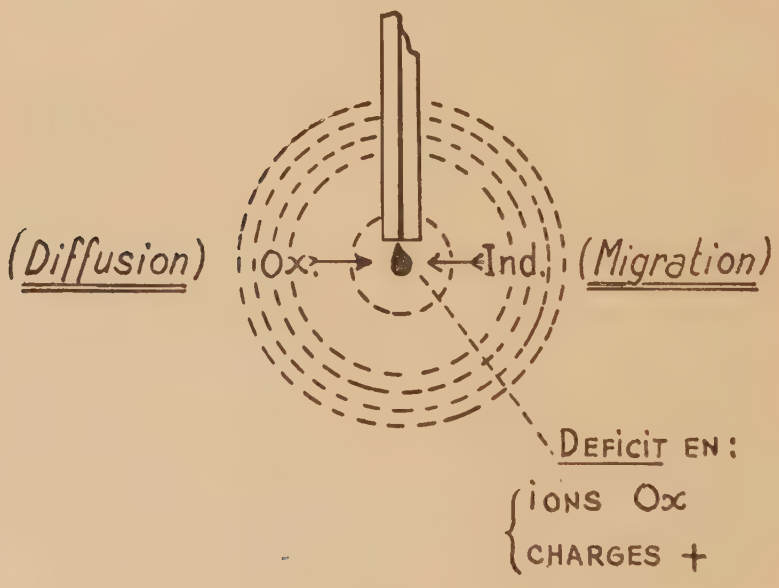

FIGURE 2

Représentation schématique des mouvements de migration et de diffusion au voisinage de l'électrode à goutte.

Ox : ion électro-réductible.

Ind : électrolyte indifférent.

Un gradient de concentration s'établit pour Ox au voisinage de l'électrode, alors que la concentration en Ind reste constante dans toute la solution

Dans ces conditions, la migration ne participera pas au courant d'électrolyse et **le courant limite ne sera formé que par le courant de diffusion** :

$$i_\infty = i_D \text{ [18, 60, 66, 108]}$$

Celui-ci est relié à la concentration par une relation linéaire :

$$i_D = kC ;$$

si l'on connaît k, on pourra donc en mesurant le courant de diffusion connaître la concentration. Cette mesure constitue l'analyse polarographique.

Ilkovic [54] a établi mathématiquement, dans le cas de l'électrode à gouttes, les équations reliant à la concentration l'intensité maxima du courant de diffusion, d'une part, et l'intensité moyenne, d'autre part. En effet, la densité de courant à la surface de la goutte de mercure varie au cours de la vie de celle-ci, cette surface augmentant jusqu'à un maximum lorsqu'elle se détache ; on est ainsi amené à considérer un courant maximum concomitant avec la plus grande surface atteinte et un courant moyen (fig. 3).

Selon Ilkovic donc, les valeurs respectives de ces courants sont données par les équations suivantes :

$$\mathbf{i_{max} = 706\ n\ D^{\frac{1}{2}}\ m^{\frac{2}{3}}\ t^{\frac{1}{6}}\ C}$$ **pour le courant maximum**

et $\mathbf{i_{moy} = 607\ n\ D^{\frac{1}{2}}\ m^{\frac{2}{3}}\ t^{\frac{1}{6}}\ C}$ **pour le courant moyen**

tous deux étant exprimés en microampères.

n est le nombre d'électrons échangés à l'électrode pour chaque atome ou molécule.

D le coefficient de diffusion de la substance dans le milieu d'électrolyse.

m la masse de mercure en g s'écoulant par seconde du capillaire où se forment les gouttes.

t le temps de goutte (période du mouvement de formation des gouttes).

C la concentration molaire ou ionique du corps électro-réductible ou oxydable.

Tous les paramètres de ces équations, sauf C, i_{moy} et i_{max}, sont des constantes pour des conditions opératoires déterminées.

Des controverses mathématiques se sont engagées autour de ces équations et divers auteurs pensent qu'il faut multiplier la valeur du courant de diffusion ainsi calculée par le facteur $(1 + X\ D^{\frac{1}{2}}\ m^{-\frac{1}{3}}\ t^{\frac{1}{6}})$ où X vaut 39 selon certains [77] et 17 selon d'autres [103].

Pour mesurer i_D sur un enregistrement graphique [108] ou une courbe construite point par point, on prolonge la partie rectiligne de la courbe comprise entre les points d'abscisse 0 et E_{min} au-delà de ce point et, d'autre part, l'on construit l'assymptote d'ordonnée i_∞. La parallèle à l'axe des ordonnées menée par le point d'inflexion coupe ces deux droites en A

et B (fig. 1). La projection droite de cette longueur AB sur l'axe des ordonnées représente la valeur de i_D. Cette façon de procéder tient compte de la faible valeur du courant résiduel qui est rarement nul et permet sa défalcation de i_∞, donnant ainsi la valeur exacte de i_D.

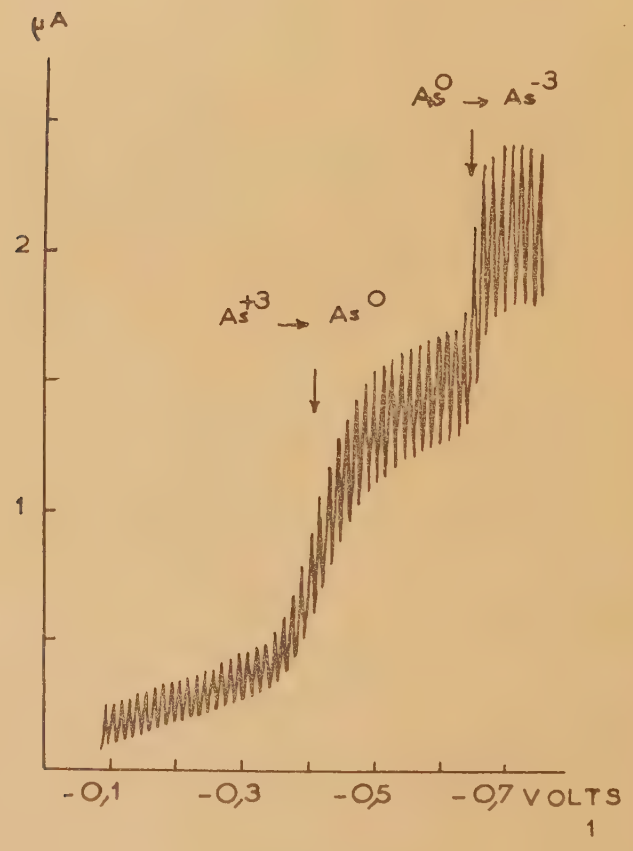

FIGURE 3

Enregistrement détaillé d'un polarogramme direct effectué avec 10 mcg/ml d'arsenic à la valence + 3 dans 1 ml de solution ClH M acide tartrique M. Sensibilité 5 microampères. Filtre 1.

Oscillations du courant d'électrolyse dues aux variations de surface de la goutte de mercure.

C) LE POTENTIEL DE DEMI-PALIER

La portion ohmique de la courbe est en général appelée « **vague** » et la valeur de la longueur représentant i_D « **hauteur de vague** ». Le potentiel $E_{\frac{1}{2}}$ pour lequel l'intensité atteint la valeur $i_{\frac{D}{2}}$ est appelé « **potentiel de demi-vague** » ou de « **demi-palier** ». Il correspondant à l'abscisse du point d'inflexion de cette partie de la courbe (fig. 1, p. 63). Cette grandeur est **constante** pour un ion donné, à température fixe et dans un électrolyte support de nature et de concentration bien déterminées. En particulier, il est **indépendant de la concentration** de l'ion déchargé, du débit de mercure et du temps de goutte [108]. Il **dépend** uniquement de la **nature de l'ion** et de son coefficient de diffusion dans le milieu (donc de la nature et de la concentration de l'électrolyte indifférent et, beaucoup plus faiblement, de la température (*) [12, 20, 61, 66, 81].

Dans un milieu donné, $E_{\frac{1}{2}}$ est donc caractéristique de la substance réduite ou oxydée à l'électrode polarisable. Certains auteurs ont même proposé des formules reliant la valeur de $E_{\frac{1}{2}}$ et les caractéristiques atomiques [98].

D) CAUSES PERTURBATRICES DE LA VAGUE POLAROGRAPHIQUE

Nous avons vu que, d'après l'équation de Ilkovic, la valeur de i_D dépendait de la constante de diffusion, de la nature de la substance à doser, de la masse de mercure s'écoulant par unité de temps, ainsi que du temps de goutte. Les courbes obtenues ne seront donc comparables que si l'on opère à **température constante** (*), **dans le même milieu, avec le même capillaire parfaitement propre et en adoptant un temps de goutte invariable.** Si ces deux dernières conditions ne sont pas observées, la masse de mercure écoulée et le temps de goutte ne seront plus constants et les courbes obtenues ne seront plus comparables.

Une autre cause de perturbation est l'agitation du milieu. En effet, on provoque alors l'apparition de courants de convection, s'ajoutant aux courants de migration et de diffusion [18].

La présence d'oxygène dissous perturbe également les courbes.

(*) D'après Kamecki et Suski [61], le coefficient de température serait pour le potentiel de demi-palier de 0,5 à 5 millivolt/degré, variation négligeable, les appareils courants ne permettant pas d'apprécier les variations de potentiel avec une précision suffisante au-dessous du centième de volt.

(*) La variation de la température modifie le coefficient de diffusion D de l'équation de Ilkovic ; celui-ci se trouvant à la racine carrée est à une puissance supérieure à celle du coefficient t ; sa variation aura donc une influence importante sur la hauteur de vague.

En effet, cet élément fournit deux paliers se situant vers — 0,1 et — 0,4 volt par rapport au potentiel normal de l'électrode de référence au Calomel pris comme origine.

Ces deux vagues correspondent aux réactions d'oxydo-réduction suivantes :

$$4\,H^+ + 4\,e \rightarrow 4\,H$$

$$2\,H + O_2 \rightarrow O_2H_2$$

$$O_2H_2 + 2\,H \rightarrow 2\,OH_2$$

Donc, sauf pour les ions déposés avant le potentiel zéro, il faut éliminer l'oxygène de la solution par **dégazage** à l'azote ou à l'hydrogène avant d'effectuer la mesure. Mais tout barbotage de gaz doit cesser avant l'enregistrement pour éviter la formation de courants de convection anormaux.

Les électrolytes support habituellement utilisés ne permettent pas d'accéder à des potentiels plus négatifs que — 2 volts car, au delà, leur cation se décharge ; seuls, les milieux contenant des sels d'ammonium quaternaire permettent de reculer cette limite à — 2,7 volts [102]. Du côté des potentiels positifs, le champ d'action est plus limité encore ; cette limitation est due à l'oxydation du mercure de l'électrode lui-même et l'on ne peut guère espérer opérer au-dessus de + 0,6 volt [93], ce qui explique que peu de mesures soient effectuées par polarisation anodique.

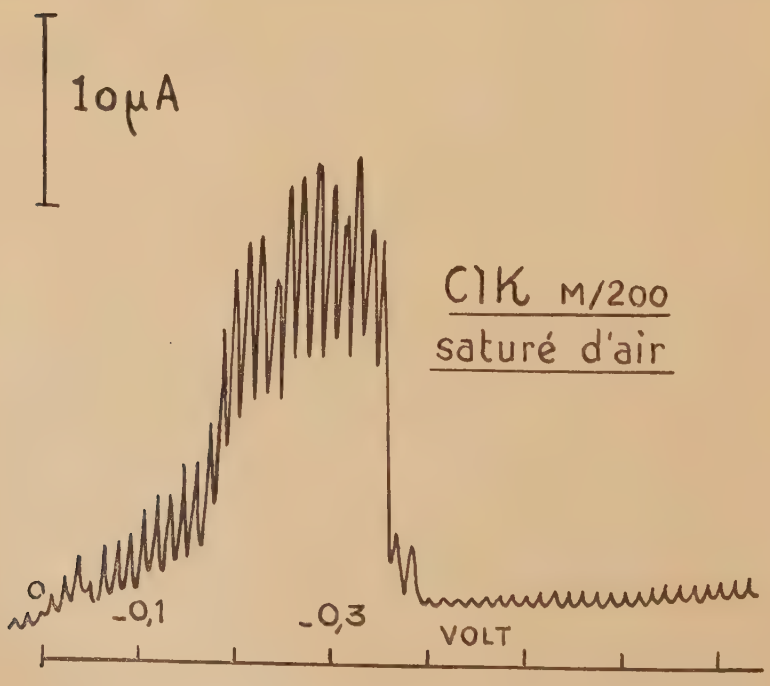

FIGURE 4

Polarogramme comportant des maxima obtenu à partir d'une solution de ClK M/200 saturée d'air. Sensibilité 100 microampères. Filtre 1.

Phénomène particulier à l'électrode de mercure, la plupart du temps les courbes sont affligées de maxima, c'est-à-dire que le courant se met à croître brusquement pour décroître ensuite. Ces phénomènes ont fait l'objet de nombreux travaux. Ils s'accompagnent de remous dans le milieu, au niveau de l'électrode, et seraient dus à l'adsorption de la substance oxydo-réductible à l'interphase mercure-solution, ce qui crée une double couche capacitaire à la surface de la goutte, capacité qui se déchargerait au moment du maximum [31, 32, 41, 44, 48, 86].

Cependant, en ajoutant dans le milieu diverses substances telles que gélatine, bleu de méthylène, rouge de méthyle, polyvinylpyrrolidone, polyéthylène-glycols, acétone, alcool butylique, etc. [2, 30, 32, 109], on arrive à inhiber ces sommets. L'action de ces corps serait due à leur adsorption à l'interphase à la place du corps oxydo-réductible, ce qui diminuerait la capacité de la double couche électrique ayant tendance à se former [30, 44]. Mais tous ces inhibiteurs diminuent plus ou moins la hauteur de vague [32], aussi ne doivent-ils être utilisés que lorsqu'ils sont vraiment indispensables, à dose la plus petite possible et, évidemment, la même pour chaque essai d'une même série.

Enfin, dans certains milieux, au-dessous de — 0,9 volt et même quelquefois avant [37, 76, 91, 102], un courant anormal est observé ; il est dû à la réduction de l'eau :

$$OH_2 + e \rightarrow H + OH^-$$

C'est le courant d'eau, mais l'addition de suppresseurs de maxima l'élimine facilement.

E) POLAROGRAPHIE DIFFERENTIELLE

Il est théoriquement possible de doser et d'identifier dans le même milieu, plusieurs substances oxydables ou réductibles à l'électrode à gouttes de mercure. En effet, **les courants de diffusion de chaque corps s'additionnent** et l'on peut obtenir l'i_D de chacun en déduisant de l'i_∞ obtenu, l'i_∞ de l'ion se déchargeant pour le potentiel de demi-palier immédiatement inférieur. Cependant ceci n'est possible que si la différence entre les potentiels de demi-palier de deux substances voisines sur le diagramme est supérieure à 0,2 volt. Pour les différences plus petites, les deux vagues se confondent et toute identification ou dosage sont impossibles. Il est certes possible en complexant l'un des ions (ce qui a pour effet d'éloigner son $E_{\frac{1}{2}}$ vers des valeurs plus négatives) [102], de séparer les vagues de ces constituants ; cependant, ce procédé offre quelquefois des difficultés. La polarographie différentielle a permis de résoudre ce problème tout au moins en ce qui concerne l'identification. J. Heyrovsky [47] et, en France, Lévêque et Roth [74] ont mis au point des dispositifs électriques permettant d'obtenir directement enregistrée la courbe dérivée de la courbe courant tension. Dans ces conditions, pour $E_{\frac{1}{2}}$ la courbe dérivée présente un maximum correspondant au point d'inflexion de la courbe directe et elle retourne au 0 après chaque pic ; ainsi, le potentiel de demi-palier est nettement déterminé.

Théoriquement, la valeur de l'ordonnée de ce sommet devrait correspondre à la concentration de l'ion : c'est ce que pensent Heyrovsky, Lévêque et Roth. Mais d'autres auteurs [56, 65, 79] estiment qu'**il n'y a pas proportionnalité rigoureuse** entre la valeur du courant maximum au sommet du pic et la concentration. Aussi, nous sommes-nous abstenu d'utiliser ce procédé pour les dosages, nous contentant de faire confiance à sa valeur qualitative.

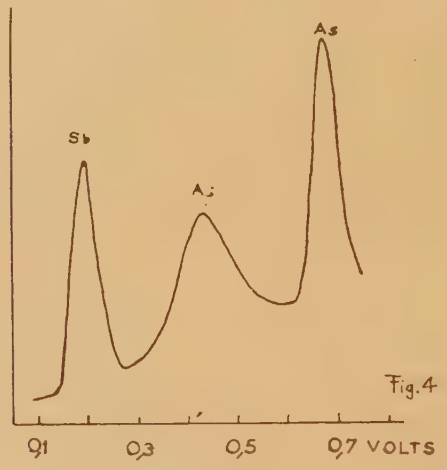

FIGURE 5

Enveloppe extérieure de l'enregistrement en polarographie dérivée d'une solution contenant 20 mcg/ml d'antimoine et 10 mcg/ml d'arsenic à la valence + 3.

Les sommets des pics correspondent aux potentiels de demi-palier, points d'inflexion de la courbe directe.

F) PRATIQUE DE LA METHODE POLAROGRAPHIQUE

Dans nos essais, nous avons utilisé un polarographe enregistreur MECI, type LX, avec électrode à gouttes de mercure. Cet appareil est muni d'un dispositif permettant de faire défiler les potentiels synchroniquement avec le déroulement du papier sur lequel se fait l'enregistrement. Ce papier est quadrillé et une simple numération des carreaux permet de situer avec précision les potentiels. Sa sensibilité peut varier de 100 à 1 microampère. Enfin, il possède un dispositif permettant soit d'enregistrer la totalité du courant de diffusion et les oscilla-

tions amorties ou non dues à l'augmentation progressive de la surface de la goutte de mercure puis son brusque retour à zéro (filtres 0 et 1), soit l'enregistrement du courant moyen (filtres 2 et 3) [82].

Nous avons utilisé une microcellule à électrolyse du type en H permettant des dosages sur moins de 1 ml. de liquide.

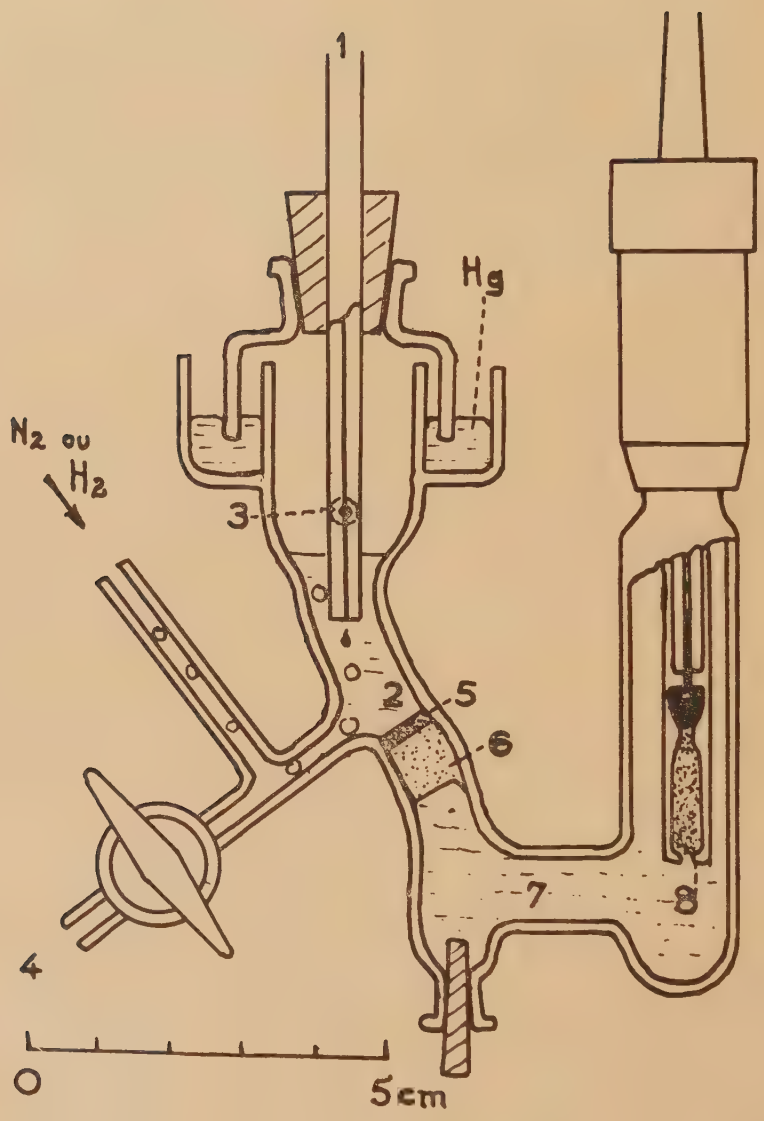

FIGURE 6

Microcellule pour polarographie (type en H)

1 — *Capillaire servant à l'arrivée du mercure.*
2 — *Solution soumise à l'électrolyse.*
3 — *Tubulure servant à l'évacuation de l'azote.*
4 — *Tubulure permettant de vider la cellule.*
5 — *Plaque de verre fritté.*
6 — *Pont d'agar-agar saturé de ClK.*
7 — *Solution aqueuse saturée de ClK.*
8 — *Electrode au calomel.*

Les mesures peuvent s'effectuer la cellule étant en thermostat. On peut alors préparer à l'avance **une courbe** $i_D = f(C)$ qui est évidemment une droite. Ceci permet de se dispenser d'effectuer un témoin pour chaque dosage, il suffit de se reporter à l'abaque pour obtenir la concentration inconnue en fonction de la hauteur de vague mesurée. Mais il est nécessaire de refaire l'abaque à chaque changement de capillaire. Ces tubes ayant le grave défaut de se boucher assez souvent et étant alors la plupart du temps inutilisables, nous avons préféré effectuer la mesure d'un témoin lors de chaque essai, ce qui nous a dispensé également d'opérer en thermostat, car les mesures se déroulent à une cadence assez rapide (au maximum 7 à 8 minutes d'une mesure à l'autre).

Lorsqu'on utilise ainsi un témoin, on peut procéder de deux façons différentes :

— soit adopter la méthode de **l'étalon interne**, consistant à effectuer un premier polarogramme du milieu soumis à l'investigation, suivi d'un second avec le même milieu dans lequel on a ajouté une quantité connue « a » de la substance à doser mais sous un faible volume de manière à ne diluer le milieu que d'une façon insignifiante.

Si i_x est la hauteur de vague du premier polarogramme
i_a celle du second
x la concentration inconnue, on a

$$\frac{i_x}{i_a} = \frac{x}{x + a} \qquad \text{d'où } x$$

— soit **effectuer séparément** le polarogramme d'un étalon connu et préparé dans les mêmes conditions que l'essai, alors x est donné par : $\frac{i_x}{i_a} = \frac{x}{a}$. C'est ce dernier procédé que nous avons adopté.

Dans ces conditions, la méthode polarographique est vraiment spécifique. Elle permet de doser des quantités de substance comprises entre 10^{-3} **et** 10^{-6} **M** [37, 108] **et même moins** avec un appareil tel que celui que nous utilisons (*) ; c'est donc une micro-méthode. Sa **précision** est de l'ordre de 2 % [13, 37, 93]. Elle est **fidèle** et reproductible et permet de conserver une **preuve matérielle** de la présence de la substance incriminée.

(*) Pour les plus faibles doses d'arsenic que nous ayions dosées, la concentration dans la cellule était inférieure à 10^{-7} M.

Enfin, le courant d'électrolyse étant extrêmement faible, la consommation de substance est pratiquement nulle et la solution polarographiée peut être utilisée ensuite pour servir à effectuer une **contre-épreuve** supplémentaire à l'aide d'une méthode chimique classique.

Toutes ces qualités nous font penser que cette méthode électrochimique est parfaitement adaptée aux identifications et dosages demandés par la toxicologie, particulièrement à l'arsenic et à sa distinction avec l'antimoine.

SECTION II

L'ARSENIC ET L'ANTIMOINE EN POLAROGRAPHIE

Pour nous en tenir seulement aux pays de l'hémisphère occidental, signalons d'abord que l'arsenic et l'antimoine ont été peu étudiés à ce point de vue. En revanche, de nombreuses investigations ont été faites sur d'autres éléments toxiques, notamment sur le plomb [1, 5, 6, 9, 14, 33, 34, 42, 42 bis, 42 ter, 57, 58, 71, 75, 89, 97, 106, 110], le thallium [27, 67, 95, 106, 107], l'or [84, 85], le bismuth et le cadmium [106], l'étain [80], etc... ; le palladium a également intéressé les toxicologues car sa détermination polarographique peut permettre un dosage indirect de l'oxyde de carbone [3, 111]. Mais les dosages polarographiques de l'arsenic et de l'antimoine offrent certaines difficultés.

A) POLAROGRAPHIE DE L'ARSENIC

Pour celui-ci, lorsqu'il est à la valence + 5, il n'est apparemment pas réduit par polarographie [66]. Cependant, certains auteurs [62, 83] ont obtenu dans des milieux spéciaux (ClH 11,5 M ou ClLi 0,1 M), deux vagues de réduction qui correspondraient, pour la première, à la réduction de As^{+5} en As^{0}, et pour la seconde à celle de As^{0} en As^{-3}. Mais aucune des hauteurs de ces vagues ne suit la loi de Ilkovic [7, 62]. On préfère, en général, s'adresser à la réduction ou à l'oxydation de l'arsenic à la valence + 3.

Pour la réduction, les milieux le plus souvent employés sont :

SO_4H_2 N [22],
le mélange : SO_4H_2 2,5 N CH_3-COOH 0,5 N éthanol 50 p. 100 [39], ClH 0,1 N [32], N [90] ou encore contenant 25 p. 100 de ClNa [36].

D'autres préfèrent des milieux complexes formés de sulfates et chlorures de métaux alcalins [63, 64].

Dans tous ces milieux l'arsenic fournit à la cathode **deux vagues, dont la première, correspondant à la réduction de As^{+3} en As^{0}, suit la loi de Ilkovic** pour des concentrations inférieures à 100 mcg/ml [72]. Quant à la **seconde,** elle est provoquée par la **réduction de As^{0} en As^{-3}.** Malheureusement, dans ces conditions, les vagues présentent des maxima difficilement réductibles. Olivier a mis au point un dosage de l'arsenic présent dans les eaux minérales [90] en utilisant le bleu de méthylène comme inhibiteur de maxima avec un électrolyte support chlorhydrique M. Mais nous avons vu que tous ces inhibiteurs

diminuaient la hauteur de vague, ce qui est, évidemment, un inconvénient [32].

Ces maxima sont supprimés, du moins pour la première vague, en complexant l'arsenic en milieu acide. Pour cela les dosages de l'arsenic trivalent par polarographie emploient volontiers des électrolytes support contenant, par exemple, de **l'acide tartrique** [25, 26, 40, 105], du CNK [55] ou de l'acide ascorbique [104]. D'autres auteurs utilisent pour le dosage la hauteur d'un maximum qui, à l'électrode à gouttes de mercure est très reproductible [63, 64].

En milieu alcalin, la réduction des arsénites n'est pas possible à l'électrode à gouttes [66]. En revanche, leur oxydation anodique en As^{+5} donne de bons résultats, aussi certains auteurs utilisent-ils ce procédé en présence ou en l'absence d'agents complexants ou d'inhibiteurs de maxima [17, 24, 68].

Il est important de signaler qu'il est possible de doser l'arsenic pentavalent par polarographie en le réduisant préalablement à la valence + 3 [21, 70, 73, 90].

B) POLAROGRAPHIE DE L'ANTIMOINE

Pour ce métalloïde, de bons résultats ont été plus facilement obtenus. En effet, l'antimoine à la valence + 5 peut être réduit polarographiquement en milieu acide fort et en présence d'ions Cl^- ou Br^- [10, 66]. Dans ces conditions, il fournit deux vagues, dont la seconde, correspondant à la réduction de Sb^{+3} en Sb^0, est utilisable à des fins analytiques. Ces vagues ne présentent pas de maxima. Divers auteurs ont utilisé ces propriétés pour mettre au point des méthodes de dosage [11, 29, 50, 51, 68, 69, 78].

Quant à l'antimoine trivalent, en milieu acide N, il fournit **une seule vague suivant la loi de Ilkovic** [94]. Goodwin et Page ont utilisé cette vague pour le dosage des médicaments antimoniés dans les urines ou dans le sang [38].

Enfin, ce même ion, en milieu alcalin fort, fournit, en plus de la vague cathodique, une vague anodique, provoquée par son oxydation à la valence + 5, vague dont la hauteur est proportionnelle à la concentration [23, 68].

C) POLAROGRAPHIE DE L'ARSENIC ET DE L'ANTIMOINE REUNIS

Vu la parenté chimique de ces deux métalloïdes, on a voulu également les doser **ensemble**, dans le même électrolyte support. En effet, les potentiels de demi-palier de l'antimoine et de l'arsenic à la valence + 3 sont assez éloignés pour que ceci soit théoriquement possible. Les premiers essais en ce sens furent effectués par Bayerle et par Kacirkova [8, 59].

Des auteurs russes [96] et américains [92] obtiennent des résultats positifs, pour les premiers dans un milieu contenant une partie de SO_4H_2 5 N et une partie d'éthanol en présence de gélatine, et pour les seconds dans le SO_4H_2 0,5 M. Susic [104] préfère complexer les deux métalloïdes grâce à l'acide l-ascorbique. D'autres effectuent le dosage en milieu contenant de la soude 5 N plus 5 p. 100 de mannitol et en opérant par oxydation anodique [28]. Enfin, Haight [40] emploie un milieu à la fois **molaire en ClH et molaire en acide tartrique** ; c'est cette méthode qui est à la base de notre travail, aussi allons-nous en parler plus longuement.

Section III

TRAVAUX ANTERIEURS SUR LE DOSAGE POLAROGRAPHIQUE DE L'ARSENIC ET DE L'ANTIMOINE SUSCEPTIBLES D'APPLICATIONS TOXICOLOGIQUES

L'isolement préalable du toxique à doser par polarographie s'avère dans la plupart des cas nécessaire ; en rassemblant l'ion sous un faible volume dans une liqueur suffisamment purifiée, il est possible de l'identifier avec certitude et de le doser avec rigueur. C'est ainsi que pour les métaux (plomb, cadmium, thallium), Fabre, Truhaut et Boudène [34, 107] insistent sur l'intérêt de l'enrichissement et de l'isolement préalable même si le dosage ne se termine pas polarographiquement comme c'est le cas pour le cadmium qui est dosé par spectrographie [34].

Les trois auteurs que nous avons étudiés et des méthodes desquels nous nous sommes inspiré utilisent tous un isolement de l'arsenic et de l'antimoine par l'intermédiaire de la formation d'hydrure.

A) METHODE DE BAMBACH

La première méthode en date semble être celle de Karl Bambach [7]. Elle s'adresse **uniquement à l'arsenic** et est inspirée pour l'isolement de la méthode de Cassil [15, 16] et pour le dosage polarographique de celle de Nejedly [88].

1° Exposé de la méthode.

L'auteur procède d'abord à une minéralisation du matériel biologique grâce à la méthode décrite par Hubbard [52]. Il élimine ensuite les dérivés nitrés par action d'une solution sature d'oxalate d'ammonium. Puis le résidu de minéralisation qui est, soulignons-le, sulfurique, est additionné de 10 à 15 ml de ClH dans un erlenmeyer de 125 ml. Le tout est complété à 70 ml par de l'eau distillée. On ajoute ensuite de l'IK en solution et du Cl_2Sn puis 10 à 12 g de zinc en bâtons. L'erlenmeyer est alors immédiatement coiffé de l'appareillage à dégagement et placé sur une plaque chauffante ou un bain d'eau chaude.

L'appareil à dégagement débute par un réfrigérant à reflux s'adap-

tant par un rodage sur l'erlenmeyer. Il est suivi d'un barboteur à gaz avec disque en verre fritté contenant une solution d'acétate de plomb, puis d'un deuxième barboteur formé d'un tube à centrifuger gradué contenant 2 ml de solution de Cl_2Hg à 1,6 p. 100.

On laisse le dégagement s'effectuer pendant 30 minutes. On place alors le barboteur final contenant l'extrémité du tube à dégagement dans un bain d'eau chaude, ce qui a pour effet de transformer le complexe As — Hg en As_2O_3 et Cl_2Hg_2. On rince l'extrémité du tube à dégagement et joint les eaux de lavage au contenu du barboteur. On concentre ensuite pour ramener le volume à 2 ml, ajoute I goutte de solution de bleu de bromothymol, 0,2 ml de solution de sulfate d'hydroxylamine à 40 p. 100 puis de l'ammoniaque goutte à goutte jusqu'à ce que tout le mercure soit précipité, mais en quantité telle que l'indicateur n'atteigne pas la couleur bleue mais vire au jaune-vert, ce qui correspond à un pH de 6. Dans ces conditions seulement il n'y a pas de perte d'arsenic à ce stade. On chauffe ensuite jusqu'à cessation du dégagement d'azote puis on refroidit, note le volume et centrifuge.

L'arsenic étant ainsi isolé, l'auteur procède à sa détermination polarographique. Il place 2 ml du liquide clair surnageant dans la cellule à électrolyse, ajoute 0,4 ml de ClH 9 N ou 3 N (selon que la quantité d'arsenic à doser est supérieure ou inférieure à 20 mcg), et polarographie après dégazage à l'azote pendant 5 minutes, entre 0 et — 0,7 volt (par rapport au potentiel standard de l'électrode au calomel). Dans ces conditions l'auteur effectue la lecture sur la première vague de As^{+3}, dont le potentiel de demi-palier est à — 0,35 volt ou — 0,5 volt, selon le milieu où l'on opère. Il compare la hauteur de vague à une abaque préalablement préparée avec des étalons de As_2O_3 contenant une petite quantité de Cl_2Hg.

2° **Discussion.**

Nous n'avons pas cru devoir retenir cette méthode pour servir de base à notre travail. En effet, les causes de pertes en arsenic nous ont paru nombreuses d'une part, et d'autre part, nous ne pensons pas qu'un polarogramme obtenu dans ces conditions donne toute satisfaction.

L'auteur en effet introduit directement le produit de minéralisation dans le générateur à hydrogène. Or nous avons vu que la présence des sels solubles ou insolubles contenus dans ce minéralisat avait pour effet de diminuer le dégagement de AsH_3.

D'autre part, le milieu d'attaque du zinc contient du SO_4H_2 qui, à la température à laquelle il opère, a toutes les chances d'être réduit en SH_2. Il compte d'ailleurs sur cette réduction puisqu'il interpose un barboteur à l'acétate de plomb. Or un tel lavage des gaz, nous l'avons vu également, est susceptible de retenir du AsH_3.

En outre la totalité de l'acide est introduite dans le générateur en une seule fois, ce qui ne peut produire qu'un rendement minimum ; le volume de liquide dans le générateur est grand (au moins 75 ml) ; enfin la concentration, suivie d'un deuxième chauffage de la solution d'arsenic à la valence + 3 dans un milieu contenant des ions Cl^-, est susceptible d'occasionner une perte en arsenic par volatilisation de Cl_3As.

La détermination polarographique en milieu ClH 1,5 N ou 0,5 N ne nous paraît pas non plus satisfaisante. En effet des maxima sont à prévoir dans de tels milieux, d'autant plus que l'auteur n'utilise pas d'inhibiteur (*). D'ailleurs, l'auteur reconnaît que le polarogramme ainsi obtenu est complexe, et c'est pourquoi il n'utilise pas d'étalon interne mais une abaque de comparaison. C'est également pourquoi

(*) A moins que le bleu de bromothymol ajouté lors de l'addition d'ammoniaque agisse comme suppresseur de maxima, mais l'auteur ne le précise pas.

il emploie deux électrolytes support de forces ioniques différentes selon la concentration en arsenic ; en effet pour les faibles quantités de ce métalloïde pour lesquelles on est obligé d'utiliser de hautes sensibilités, l'emploi de ClH 0,5 N permet d'obtenir une courbe moins accidentée que celle enregistrée dans du ClH 1,5 N. En revanche, pour les grandes quantités d'arsenic, il faut utiliser un acide au moins N car les grandes hauteurs de vagues obtenues font qu'avec un pH moins acide les deux vagues de l'arsenic interfèrent l'une sur l'autre.

D'autres inconvénients, également, méritent d'être signalés : les réactifs à préparer sont nombreux et certains ne sont pas de bonne conservation, l'élimination du mercure par réduction est souvent délicate et la mesure du volume final peu précise.

Enfin, l'auteur pense que l'antimoine ne peut être dosé par ce procédé car il n'est pas distillé à l'état de SbH_3 dans ces conditions. Ce n'est pas notre opinion, car il est bien connu que SbH_3 est formé dans la méthode de Cribier et n'est pas arrêté par l'acétate de plomb. Haight, d'ailleurs, base sa méthode de dosage de l'arsenic et de l'antimoine en mélange sur ce fait [40], et nous-même avons utilisé cette propriété. Néanmoins, s'il est présent dans le milieu polarographié, il n'est pas une gêne, sa vague se produisant bien avant celle de l'arsenic (*).

B) METHODE DE HAIGHT

1° Exposé de la méthode [40].

La méthode de G.P. Haight nous a semblé être un réel progrès sur la précédente. C'est une **semi-micro-méthode** permettant de doser, selon l'auteur, l'arsenic entre 80 et 750 mcg et l'antimoine entre 150 et 1.300 mcg, isolés l'un de l'autre ou en mélange.

L'auteur provoque la génération des hydrures par action de SO_4H_2 6N sur du zinc en présence du milieu à tester, sans autre précision sur ce point. Les gaz sont dirigés dans de petites tubes de verre contenant du silicagel imprégné de 1 p. 100 de NO_3Ag. A la fin du dégagement, on traite le silicagel au bain-marie 10 à 15 minutes, à trois reprises, par 3 ml d'une solution contenant par litre 1 mole de ClH et 1 mole d'acide tartrique. Les trois liquides d'épuisement sont réunis, le volume complété à 10 ml par le milieu d'extraction et, si l'on ne polarographie pas immédiatement la solution, additionnés de quelques cristaux de sulfite de soude pour maintenir à la valence + 3 l'arsenic et l'antimoine. L'anhydride sulfureux donnant dans ce milieu une vague qui interfère avec la première vague de l'arsenic, il est alors nécessaire de chauffer la solution avant de polarographier. Cependant, ce traitement par le sulfite n'est pas nécessaire si l'on polarographie immédiatement.

On dégaze pendant 10 minutes à l'azote et effectue le polarogramme.

(*) E ½ de l'antimoine dans ClH 1,5 N se situe à — 0,16 volt et dans ClH 0,5 N à 0,22 volt.

Dans ces conditions, l'arsenic fournit **deux vagues** : la première, ne présentant jamais de maxima, ayant un $E_{\frac{1}{2}}$ **à — 0,403 volt**, est utilisée pour le dosage ; la seconde, plus courte, débutant brusquement, présente des maxima difficilement réductibles et a un $E_{\frac{1}{2}}$ **à — 0,668 volt.** Mais cette dernière vague est inhibée par la présence d'ions Ag^{+} ou Hg^{++} et, d'autre part, disparaît pour les faibles concentrations en arsenic. L'antimoine fournit **une seule vague dont le** $E_{\frac{1}{2}}$ **est à — 0,138 volt** (*), mais pour les hautes concentrations de ce métalloïde un maximum apparaît qui est supprimé en utilisant une cellule possédant un pont en agar-agar (**).

2° **Discussion.**

Les principales critiques que l'on peut faire à ce procédé sont :

a) c'est une semi-micro-méthode ; or, on a le plus souvent à évaluer en toxicologie des quantités d'arsenic ou d'antimoine inférieures à 80 mcg ;

b) l'épuisement du gel de silice nécessite un volume important de liquide, ce qui dilue le toxique et fait perdre à la méthode une grande partie de sa sensibilité. Or, à l'aide d'une microcellule (**) on peut, nous l'avons déjà dit, effectuer des polarogrammes avec moins de 1 ml de liquide;

c) l'auteur, enfin, reconnaît que, pour les fortes doses d'arsenic et d'antimoine, il observe des pertes. Nous regrettons à ce sujet qu'il n'ait pas cru bon de préciser les conditions dans lesquelles il obtenait l'arsine et la stibine, conditions qui, nous l'avons vu, ont une grande importance pour le rendement de telles opérations.

C) METHODE DE VIGNOLI ET CRISTAU

1° **Exposé de la méthode.**

La méthode décrite par ces auteurs [25, 26] s'inspire des procédés de Cribier (conditions du dégagement de l'hydrogène arsénié), de Gutzeit (emploi d'un papier au nitrate d'argent) et de Haigt (dosage polarographique de l'arsenic contenu dans le papier, en milieu chlorhydrique - tartrique molaire) : c'est une microméthode utilisable dans la pratique courante des expertises toxicologiques.

(*) Tous ces potentiels sont évalués en prenant comme potentiel 0 le potentiel standard de l'électrode au calomel. Il en sera de même pour la suite de ce travail.

(**) C'est une cellule de ce type que nous avons utilisée (cf. fig. 6, p. 64).

Ils réalisent les conditions de formation de AsH_3 exactement à la façon de Cribier, en utilisant du zinc pour toxicologie, en pastilles, « Prolabo », mais le tube à dégagement, après un départ vertical, subit une double courbure de manière à redevenir vertical mais dans la direction du sol. Ce tube est garni à son extrémité par une **bande de papier Arches 304** pour chromatographie de 5 mm de largeur, préalablement immergée dans une solution de NO_3Ag à 2,5 p. 100 p/v et desséchée. D'autre part, le générateur est immergé dans l'eau glacée.

Après une nuit de dégagement, le papier est recueilli et l'extrémité noircie isolée. Celle-ci est fendue longitudinalement de plusieurs traits et extraite pendant 10 minutes en tube bouché émeri et à une température de +70° à +80° C par un volume de réactif chlorhydrique - tartrique de Haight, tel que la concentration en arsenic soit comprise entre 5 et 20 mcg/ml (*). On agite de temps en temps, puis refroidit les tubes dans la glace fondante. On sépare le papier du liquide extractif et polarographie après dégazage à l'azote « R ». Les auteurs emploient un étalon externe préparé extemporanément à partir d'une solution mère de As_2O_3 dans ClH N à 1 p. 1.000 p/v en arsenic. Cet étalon de concentration 10 à 20 mcg/ml dans le réactif de Haigt, est traité de la même façon que les essais, après avoir reçu un morceau de papier au NO_3Ag non impressionné de mêmes dimensions que ceux extraits.

Dans ces conditions, le tracé polarographique révèle les deux vagues de l'arsenic avec les mêmes potentiels de demi-palier que ceux obtenus par G.P. Haight. Le dosage, effectué sur la première vague, permet de retrouver, pour des doses comprises entre 5 et 40 mcg, **75 % en moyenne** de l'arsenic mis en œuvre, chiffre voisin de celui calculé par Jaulmes.

2° **Discussion**

Cette méthode qui ne tient pas compte des conclusions de Griffon et de Jaulmes présente cependant de nombreux avantages :

a) L'utilisation d'un tube à dégagement tel que les **gaz arrivent sur le papier de haut en bas,** évite toute oxydation de l'arsenic à la valence +3 retenu; en effet, l'hydrogène plus léger reste à la fin de l'opération dans l'extrémité du tube et évite la pénétration d'air au contact du papier.

b) **L'emploi de papier au lieu de gel de silice** comme support du réactif permet d'adapter la méthode à une gamme

(*) L'habitude rend possible l'appréciation de l'ordre de grandeur de l'arsenic retenu d'après la longueur de tache.

étendue de doses d'arsenic, car il est possible de faire varier le volume du liquide d'épuisement dans de très larges proportions, de manière à rester constamment au-dessous de 100 mcg/ml, concentration maxima au-dessus de laquelle la loi de Ilkovic n'est plus suivie [72].

c) **Le refroidissement** des tubes dans la glace fondante après extraction à chaud permet **d'insolubiliser au maximum les ions Ag^+** qui, nous l'avons vu, diminuent l'intensité de la deuxième vague de l'arsenic et, d'autre part, se déchargeant à potentiel 0 pourraient interférer avec la première vague.

d) La méthode possède une **spécificité totale** (potentiel de demi-palier et allure générale des vagues identifient sûrement l'arsenic); elle est **aussi sensible** que les méthodes classiques et sa **précision est satisfaisante** pour les besoins de la toxicologie (*).

Mais la conservation difficile des papiers au NO_3Ag rend leur **renouvellement très fréquent** obligatoire, et d'autre part l'extraction à chaud a pour effet de provoquer un **courant résiduel important**, ce qui est gênant lorsqu'on opère à de hautes sensibilités.

Cette méthode constituait un travail préliminaire ; elle était susceptible d'améliorations ou de simplifications et aussi d'applications variées à différents domaines de la toxicologie chimique. En premier lieu, nous avons voulu l'appliquer à la recherche et au dosage de l'arsenic contenu dans les milieux biologiques et utiliser le procédé pour connaître l'incidence exacte des produits résiduels de la minéralisation de ces milieux sur le rendement en arsenic distillé dans un générateur type Cribier.

(*) Erreur relative inférieure à 5 %.

BIBLIOGRAPHIE

[1]. — Abraham B.M. et Hoffman R.S. : Ind. Eng. Chem., 1940, *12*, 656.

[2]. — Badinand A. et Boucherle A. : IX[e] Congrès des Sociétés de Pharmacie de France, 1957, p. 147, et Bull. Soc. Chim., 1957, *8*, 1.021.

[3]. — Badinand A., Boucherle A. et Serusclat F. : J. Méd. Bordeaux, 1957, *5*, 621.

[4]. — Balle-Helaers E. et Padowa G. : Arch. belg. Méd. Soc., Hyg., Méd. Trav. et Méd. lég., 1955, *13*, 26.

[6]. — Babek W.R. : Biochem. J., 1950, *46*, 606.

[7]. — Bambach K. : Ind. Eng. Chem., 1942, *14*, 265.

[8]. — Bayerle V. : Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, 1925, *44*, 514.

[9]. — Borup R. et Levin H. : Proc. Am. Soc. Testing Materials., 1947, *47*, 1.010.

[10]. — Brezina M. et Zuman P. : Polarography in Medicine, Biochemistry and Pharmacy - Interscience Publishers Inc. éd. New-York, 1958.

[11]. — Breyer R., Gutmann F. et Hacobian S. : Australian J. Sci. Research., 1951, *A4*, 595.

[12]. — Bruss D.B. et De Vries T. : J. Am. Chem. Soc., 1956, *78*, 733.

[13]. — Buckley F. et Taylor J. : Trans. Electrochem. Soc., 1945, *87*, 16.

[14]. — Caldwell B.P. et Reznek S. : Ind. Eng. Chem., 1942, *14*, 187.

[15]. — Cassil C.C. : J. Ass. Official Agr. Chemists., 1941, *24*, 196.

[16]. — Cassil C.C. et Wichmann : *Ibid.*, 1939, 22, 436.

[17]. — Cernatescu R., Ralea R. et Poni M. : Studii cercetarie stiint (Roumanie), 1952, *3*, 82.

[18]. — Charlot G., Badoz-Lambling J. et Tremillon B. : Les réactions électrochimiques - Masson et C[ie] ed., Paris, 1959.

[19]. — Charlot G. et Bezier D. : Méthodes modernes d'analyse quantitative minérale - Masson et C[ie] ed., Paris, 1949, p. 207.

[20]. — Chirkov S.K. : J. Gen. Chem. (U.R.S.S.), 1943, *13*, 503.

[21]. — Cosisn A.H.M. et Van der Molen H.J. : Anal. Chim. Acta., 1958, *18*, 259.

[22]. — Coulson R.E. : Analyst., 1957, *82*, 161.

[23]. — Cozzi D. et Vivarelli S. : Anal. Chim. Acta., 1950. *4*, 300.
[24]. — Cozzi D. et Vivarelli S. : *Ibid.*, 1951, *5*, 215.
[25]. — Cristau B. : Dosage toxicologique de l'arsenic par spectrophotométrie et par polarographie - Thèse Sciences (Université), Marseille, 1958, p. 69.
[26]. — Cristau B. : Bull. Soc. Chim., 1958, *19*, 717.
[27]. — Demey-Ponsart E. et Lapière S. : Ann. Dermat. et Syphiligraphie, 1952, *79*, 137.
[28]. — Dolaberidze L.D., Kamkamidze D.K. et Bugianishvili V.K. : Referat. Zhur. Khim. (U.R.S.S.), 1956, Abstr. n° 61.837.
[29]. — Dolezal J. et Beran P. : Chem. Listy, 1956, *50*, 1.757.
[30]. — Doss K.S.G. et Kalyanasundaram A. : Proc. Indian Acad. Sci., 1952, *35 A*, 27.
[31]. — Dvorak J. et Herrmann P. : Chem. Listy, 1952, *46*, 565.
[32]. — Everest D.A. et Finch G.W. : J. Chem. Soc., mars 1955, 704.
[33]. — Fabre R., Truhaut R. et Boudène C. : C.R. 1956, *243*, 624, et Arch. Mal. Prof., 1957, *18*, 5 et 39.
[34]. — Fabre R., Truhaut R. et Boudène C. : J. Méd. Bordeaux, 1957, *5*, 764.
[35]. — Frediani H.A. et Bass L.A. : Oil gas J., 1949, *39*, 51.
[36]. — Gagliardo E. : Ric. Sci., 1950, *20*, 969.
[37]. — Gagliardo E. : Boll. Chim. Farm., 1958, *97*, 494.
[38]. — Goodwin L.G. et Page J.E. : Biochem. J., 1942, *36*, XI, et 1943, *37*, 198.
[39]. — Goto H. et Ikeda S. : Nippon Kiuzoku Gakkaishi, 1954, *18*, 434.
[40]. — Haight G.P. : Anal. Chem., 1954, *26*, 593.
[41]. — Hans W. et Von Stackelberg V. : Zeit. Elektrochem., 1951, *55*, 43.
[42]. — Harmand J. : Contribution à l'étude du saturnisme - Berger-Levrault éd., Paris, 1941.
[42 bis]. — Hered W. et Hered G.R. : Ind. Eng. Chem., 1945, *17*, 780.
[42 ter]. — Heusgem C., Ponsart L. et Lenaers R. : J. Pharm. Belg., 1949, *4*, 27.
[43]. — Heyrovsky J. : Chem. Listy, 1922, *16*, 256. Philosophical magazine, 1923, *45*, 303. Trans. Faraday. Soc., 1924, *19*, 692, et C.R. 1924, *179*, 1.044 et 1.267.
[44]. — Heyrovsky J. : Act. Sci. Ind., Hermann et Cie ed., Paris, 1934, n° 90.
[45]. — Heyrovsky J. : Polarographie - J. Springer ed., Vienne, 1941, et Polarographister Pratikum - J. Springer ed., Berlin, 1948.
[46]. — Heyrovsky J. : Coll. Trav. Chim. Tchéc., 1947, *12*, 156 et 677 - 1948, *13*, 481 - 1949, *14*, 569, et 1951, *16*, 430.

[47]. — HEYROVSKY J. : Chem. Listy, 1949, *43*, 149.
[48]. — HEYROVSKY J. : Z. Physik. Chem. (Leipzig), 1958, 7, 16.
[49]. — HEYROVSKY J. et SHIKATA M. : Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, 1925, *44*, 496.
[50]. — HOURIGAN H.F. : Analyst, 1946, *71*, 524.
[51]. — HOURIGAN H.F. et ROBINSON J.W. : Anal. Chim. Acta., 1954, *10*, 281.
[52]. — HUBBARD D.M. : Ind. Eng. Chem., 1941, *13*, 915.
[53]. — HUME D.N. : Anal. Chem., 1958, *30*, 675.
[54]. — ILKOVIC D. : Coll. Czech. Chem. Comm., 1934, *6*, 498, et J. Chim. Phys., 1938, *35*, 129.
[55]. — ISHIBASHI M., FUJINAGA T. et SATO M. : Bull. Inst. Chem. Research Kyoto Univ., 1956, *34*, 10.
[56]. — ISSHIKI T., MASHIKO Y. et TSUKAGOSHI S. : Pharm. Bull. (Japon), 1954, *2*, 263.
[57]. — JENSEN R. : Chimie Anal., 1955, *37*, 53, et Bull. Soc. Pharm., Bordeaux, 1957, *96*, 67.
[58]. — JONES F.R. et BRASHER D.M. : Analyst, 1947, *72*, 423.
[59]. — KACIRKOVA K. : Coll. Czech. Chem. Comm., 1929, *1*, 477.
[60]. — KAMBARA T. et TACHI I. : J. Electrochem. Soc. Japan., 1950, *18*, 189.
[61]. — KAMECKI J. et SUSKI L. : Roczniki Chem., 1954, *28*, 601.
[62]. — KEMULA W., GRABOWSKI Z. R., MAKLES Z. et PAWLAK L. : Roczniki Chem., 1954, *28*, 521.
[63]. — KHLOPIN N. Y. : J. Gen. Chem. (U.R.S.S.), 1948, *18*, 364, et Chem. Abstr., 1954, *48*, 1875.
[64]. — KHLOPIN N.Y., RAFALOVICH N.A. et AKSENOVA G.P. : J. Gen.. Chem. (U.R.S.S.), 1948, *3*, 16.
[65]. — KIES H.L. et NIJON H. : Anal. Chim. Acta.. 1953, *9*, 462.
[66]. — KOLTHOFF I.M. et LINGANE J.J. : Polarography, Interscience Publishers Inc. ed., New-York, 2nd edition, 1952.
[67]. — KOLTHOFF I.M. et MILLER C.S. : J. Am. Chem. Soc., 1940, *62*, 2171.
[68]. — KOLTHOFF I.M. et PROBST R.L. : Anal. Chem., 1949, *21*, 753.
[69]. — KRAUS R. et NOVAK J.V.A. : Die Chemie, 1943, *56*, 302.
[70]. — KRUYKOVA : Zavod. Lab. (U.R.S.S.), 1937, *6*, 1385 - 1938, *7*, 273, et 1940, *9*, 950.
[71]. — LANDRY A.S. : J. Ind. Hyg. Tox., 1947, *29*, 168.
[72]. — LEPEINTRE M. : 26e Congrès de Chim. Ind., 1953.
[73]. — LEPEINTRE M. et OLIVIER H. R. : C.R., 1952, *234*, 353.
[74]. — LÉVÊQUE P. et ROTH F. : J. Chim. Phys., 1949, *46*, 480.
[75]. — LINGANE J.J. : Ind. Eng. Chem., 1943, *15*, 583, et 1944, *16*, 147.
[76]. — LINGANE J.J. : Anal. Chem., 1949, *21*, 45, et 1951, *23*, 86.
[77]. — LINGANE J.J. et LOVERIDGE B.A. : J. Am. Chem. Soc., 1950, *72*, 438.

[78]. — Lingane J.J. et Nishida F. : J. Am. Chem. Soc., 1947, *69*, 530.
[79]. — Lingane J.J. et Williams R. : J. Am. Chem. Soc., 1952, *74*, 790.
[80]. — Markland J. et Shenton F. : Analyst., 1957, *82*, 970.
[81]. — Meci : Mesures électriques en solution.
[82]. — Meci : Polarographe LX, Notice de mise en service et d'entretien.
[83]. — Meites L. : J. Am. Chem. Soc., 1954, *76*, 5927.
[84]. — Merville M.R. et Dequidt J. : Bull. Soc. Pharm. Lille, 1955, *1*, 39.
[85]. — Merville M. R., Verhaegue A. et Dequidt J. : *Ibid.*, 1953, *2*, 29.
[86]. — Micka K. : Chem. Listy, 1955, *49*, 1148.
[87]. — Moore W.J. : Chimie Physique - Dunod éd., Paris, 1957, p. 606.
[88]. — Nejedly : Coll. Czech. Chem. Comm., 1929, *1*, 319.
[89]. — Nylander A.L. et Holmquist C.E. : Arch. ind. Hyg. occup. Med., 1954, *9*, 695.
[90]. — Olivier H. R. : Bull. Soc. Chim. Biol., 1954, *36*, 695.
[91]. — Orlemann E.F. et Kolthoff I.M. : J. Am. Chem. Soc., 1942, *64*, 833, et Ind. Eng. Chem., 1942, *14*, 321.
[92]. — Packman G. et Reynolds G.F. : Analyst., 1956, *81*, 49.
[93]. — Page J.E. : J. Pharm. Pharmacol., 1952, *4*, 1.
[94]. — Page J.E. et Robinson F.A. : J. Soc. Chem. Ind., 1942, *61*, 93.
[95]. — Ponsart E. : J. Pharm. Belg., 1950, *7*, 2.
[96]. — Portnov M.A. et Povelkina V.P. : Zhur. Anal. Khim. (U.R.S.S.), 1948, *3*, 85.
[97]. — Reed, Gerald et Gant : Indust. Med., 1942, *11*, 107.
[98]. — Sarma N. et Raghava Rao Bh. S.V.: Current Sci. (Inde), 1956, *25*, 358.
[99]. — Semerano G. : Il polarographo sua teoria e applicazioni - A. Draghi ed., Padova, 1933.
[100]. — Semerano G. : Bibliografia polarographica - Ric. Sci., 1949, supplément A, vol. 19.
[101]. — Souchay P. : Bull. Soc. Chim., 1949, *16*, 97, et C. R. Congrès Soc. Savantes, 1951, p. 59.
[102]. — Souchay P. : Mises au point de chimie analytique pure et appliquée - Masson et Cie, éd., Paris, 1956, 4e série, p. 116.
[103]. — Strelow H. et Von Stackelberg M.: Zeit. Elektrochem. 1950, *54*, 51.
[104]. — Susic M.V. : Bull. Inst. Nuclear Sci. (Belgrade), 1955, *5*, 65.
[105]. — Trifonow A. et Elenkowa N. : Z. Physik. Chem. (Leipzig), 1956, *205*, 123.
[106]. — Truffert L. : Annal. Fals. Fraudes, 1951, *505*, 29.

[107]. — Truhaut R. et Boudene C. : Bull. Soc. Chim., 1957, 7, 1504.
[108]. — Verdier E.T. : Les principes et les applications de la méthode polarographique d'électroanalyse - Act. Sci. Ind., Hermann éd., Paris, 1943, n° 958.
[109]. — Vignoli L. et Cristau B. : Chimie Anal., sept. 1948.
[110]. — Wheeler H.J. : J. Ind. Hyg. Tox., 1947, 29, 158.
[111]. — Wilson et Daniels : Anal. Chem., 1955, 27, 904.

CHAPITRE III

TRAVAUX PERSONNELS

DOSAGE POLAROGRAPHIQUE DE L'HYDROGENE ARSENIE ETUDE CRITIQUE DES METHODES CLASSIQUES DE DOSAGE DE L'ARSENIC CONTENU DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES MISE AU POINT D'UNE METHODE PERSONNELLE

Section I

APPLICATION DE LA METHODE DE VIGNOLI ET CRISTAU AUX MILIEUX BIOLOGIQUES

La minéralisation des matières organiques par la méthode sulfonitrique aboutit à un résidu sulfurique contenant, outre l'arsenic, des sels solubles (phosphate, sulfate de sodium) et insolubles (sulfate de calcium) et aussi des dérivés organiques qui ont échappé à la minéralisation. On savait déjà, ainsi que nous l'avons exposé, que ces produits perturbaient notablement le dégagement de l'hydrogène arsénié dans le générateur de Cribier [12, 20] mais la méthode polarographique allait nous permettre de chiffrer avec précision le rendement en hydrure distillé.

A) TECHNIQUE OPERATOIRE UTILISANT L'ISOLEMENT DE L'ARSENIC A L'ETAT D'ARSENIATE AMMONIACO-MAGNESIEN AVANT INTRODUCTION DANS LE GENERATEUR

Nous distinguerons quatre étapes :

— minéralisation des matières organiques dans l'appareil de J. Pien [9, 27].

— isolement de l'arsenic du milieu de minéralisation par coprécipitation des ions arseniates avec le phosphate ammoniaco-magnésien.

— distillation de l'arsenic à l'état de AsH_3 et fixation par un papier au NO_3Ag.
— extraction de l'arsenic du papier et dosage polarographique.

1° **Minéralisation dans l'appareil de J. Pien**

Réactifs utilisés :

NO_3H pour toxicologie RP, d : 1,38,
SO_4H_2 pour toxicologie RP, d : 1,83.

Matériel : appareil de J. Pien.

FIGURE 7

Appareil de J. Pien pour la destruction des matières organiques en toxicologie et bromatologie.

Il est formé de trois parties reliées entre elles par des rodages sphériques : la partie A est constituée par un ballon à fond rond de 500 à 1.000 ml de capacité en verre pyrex, dont on chauffe uniquement le fond grâce à une plaque d'amiante percée en son centre d'une ouverture circulaire et interposée entre le ballon et le bec Bunsen; la partie B comprend : un réservoir gradué F fermé par un robinet servant à l'introduction des réactifs dans le ballon A par une tubulure latérale, et un réservoir O fermé par un autre robinet recevant les liquides de condensation retombant du réfrigérant à reflux C et provenant des vapeurs distillées du ballon A par la tubulure E.

Technique. — Nous utilisons dans cet appareil la méthode sulfonitrique classique [9]. Nos milieux d'expérimentation furent des urines, des cheveux et surtout du sang (*).

La prise d'essai (100 ml en général pour les urines, 5 ou 10 ml pour le sang, l'échantillon proposé pour les cheveux) est introduite dans le ballon. Cependant, avant d'effectuer la destruction des urines, il convient de les concentrer à consistance sirupeuse en présence de quelques ml de NO_3H pour éviter un trop grand volume de liquide distillé durant la minéralisation. L'appareil est ensuite monté et l'on introduit par le réservoir F 10 ml de NO_3H. On chauffe d'abord modérément puis plus fort, et, lorsque l'ébullition est devenue régulière on retire le feu et introduit goutte à goutte 7 ml de SO_4H_2. On recommence à chauffer jusqu'à début de noircissement de la masse. On retire le feu à nouveau et ajoute par petites affusions quelques ml du distillat contenu dans le réservoir O. On reprend le chauffage et opère de même jusqu'à ce que la masse ne brunisse plus et émette d'abondantes fumées blanches d'anhydride sulfurique. Cependant, la minéralisation n'est pas encore terminée à ce stade ; nous l'améliorons en continuant alors le chauffage et en ajoutant environ 15 ml de NO_3H goutte à goutte à la vitesse d'environ 1 goutte/seconde de façon à ce que l'atmosphère du ballon reste constamment saturée de vapeurs nitreuses. La minéralisation est terminée lorsque la liqueur sulfurique concentrée restant dans le fond du ballon est incolore ou légèrement colorée en jaune. Nous effectuons alors une nouvelle distillation des liquides recueillis en O pour récupérer l'arsenic qui a pu être entraîné lors de la phase tumultueuse de l'attaque.

2° Isolement de l'arsenic du milieu de minéralisation

Nous avons adopté le procédé mis au point par Fabre et

(*) Vu la quantité pratiquement indosable d'arsenic contenu dans ce liquide biologique à l'état normal.

Mme Cismaru [9] pour le dosage de l'arsenic urinaire en étendant cette méthode aux autres milieux biologiques que nous avons examinés.

Réactifs utilisés :

— solution à 5 p. 100 de $PO_4HNa_2, 12\ OH_2$ pour analyses R.P.,
— solution à 10 p. 100 de Cl_2Mg pour analyses R.P. (*),
— NH_4OH pour analyses R.P.

Technique. — Après refroidissement du résidu de minéralisation, celui-ci est dilué par 20 ml d'eau distillée et transvasé dans un bécher. On lave le ballon deux fois à l'eau distillée de manière à ce que le volume total des eaux de lavage réunies à la solution initiale atteigne environ 50 ml. On ajoute alors 10 ml de solution de Cl_2Mg et, pour le sang et les cheveux, 10 ml de solution de phosphate disodique. On neutralise ensuite par l'ammoniaque; contrairement à ce que pense Duranton [8], **l'emploi d'un indicateur coloré est tout à fait superflu et même gênant**. En effet, lorsqu'on atteint les pH alcalins, la liqueur prend une coloration jaune foncé (**) et un début de précipitation se produit. On ajoute alors encore 20 ml d'ammoniaque pour assurer une précipitation complète du phosphate et de l'arséniate ammoniacomagnésiens formés et pour éviter leur dissolution ultérieure en milieu proche de la neutralité. Le bécher est placé durant 2 heures au moins dans l'eau glacée, ce qui permet au précipité cristallin formé de bien se rassembler au fond du vase. On décante ensuite, lave le précipité à l'eau ammoniacale à 2-2,5 p. 100 et le recueille sur un filtre sans cendres. Les lavages sont effectués jusqu'à ce que les filtrats ne précipitent plus par le NO_3Ag nitrique.

3° **Distillation de l'arsenic**

Réactifs utilisés :

— solution de SO_4H_2 pour toxicologie RP. à 20 p. 100 p/v,
— solution de MnO_4K pour analyses RP. à 1 p. 100,
— eau oxygénée à 110 vol. Prolabo pour analyses,
— zinc en pastilles RP. pour toxicologie,
papier au nitrate d'argent.

Matériel : générateur de Cribier modifié, utilisé par B. Cristau.

(*) Ces 2 réactifs doivent être conservés au réfrigérateur pour éviter la prolifération de microorganismes.

(**) Cette coloration est due à de petites quantités de nitrophénols apparues lors de la minéralisation sulfonitrique.

Technique. — Le précipité de phosphate et d'arséniate ammoniacomagnésiens obtenu est dissous sur filtre dans 60 ml de SO_4H_2 1/5 employé en plusieurs fois et le filtrat est directement recueilli dans le flacon du générateur à hydrogène. On ajoute 15 ml d'eau distillée en les faisant passer à travers le filtre. On obtient ainsi une liqueur sulfurique où tout l'arsenic est à l'état d'ion arséniate et ne contenant pas d'autre substance étrangère que le phosphate ammoniacomagnésien. A ce stade, on ajoute par précaution, quelques gouttes de solution de MnO_4K à 1 p. 100 jusqu'à coloration rose persistant 15 minutes pour être dans les conditions décrites par Cribier. Ensuite l'excès de MnO_4K est éliminé par une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes préparée extemporanément. On introduit dans la partie horizontale du tube à dégagement un morceau de papier desséchant (*) et dans le tube vertical descendant une bandelette de papier **Arches 302** de 5 mm de largeur imprégnée auparavant par une solution de NO_3Ag à 5 p. 100 et desséchée (**). On ajoute 8 g de zinc en pastilles dans le flacon du générateur et monte immédiatement l'appareil. Le dégagement s'opère pendant une nuit, le flacon étant immergé sur les deux tiers de sa hauteur dans de l'eau glacée.

4° Extraction de l'arsenic et dosage polarographique

Réactifs :

— solution contenant par litre : ClH 1 mole, acide tartrique 1 mole,

— solution stock de As_2O_3 dans ClH N à 1 p. 100 p/v en arsenic.

Matériel :

Tubes de verre de 15 ml bouchant à l'émeri dans lesquels on pratiquera l'extraction de l'arsenic déposé sur le papier.

(*) Préparé selon la recommandation de Griffon [11] en desséchant 1 heure à l'étuve à + 100° + 105° C une bande de papier filtre de 100 × 40 mm. Cette bande est ensuite pliée en hélice sur elle-même avant l'introduction dans le tube à dégagement.

(**) Nous avons été amené à remplacer le papier Arches 304 par de l'Arches 302, moins courant actuellement dans le commerce, mais permettant d'éviter un incident qui s'est produit avec certains échantillons du premier papier. Nous obtenions quelquefois des tracés polarographiques sur lesquels une troisième vague, minime certes, mais suffisant à perturber le polarogramme, apparaissait autour d'un potentiel de demi-palier de — 0,17 volt environ. Nous avons supprimé totalement de tels accidents en utilisant le papier Arches 302.

L'utilisation d'un papier plus riche en NO_3Ag que dans la technique originale [5,6] mérite également un commentaire. Notre papier est stable plusieurs mois (réduction spontanée minime) à condition :

a) de le laver à l'eau sulfurique à 1 p. 100 puis à l'eau distillée et de le sécher avant de le tremper dans la solution de NO_3Ag, ce qui élimine des impuretés très réductrices ;

b) de le dessécher par séjour de 24 h en position verticale dans une armoire frigorifique exempte de produits volatils ;

c) de le stocker dans le même réfrigérateur, enfermé dans une boîte dont le couvercle est obturé par une double épaisseur de sparadrap.

Technique. — Nous l'avons exposée (*) ; cependant pour donner toute leur valeur comparative aux résultats, nous avons effectué **l'extraction à la température de** $+75^{\circ}$ **C** $\pm 1^{\circ}$ et avons fixé le **temps de refroidissement à 5 minutes.** L'étalon est préparé juste avant chaque série de dosages polarographiques (**); pour préciser encore les conditions et rendre l'étalon aussi comparable que possible à l'essai, nous immergeons dans ce témoin, avant de procéder au chauffage, non pas un simple morceau de papier au NO_3Ag vierge, mais une partie de la **portion non impressionnée** de la bandelette ayant séjourné dans le tube à dégagement d'un générateur en marche. Enfin le dégazage de la solution est effectué indifféremment à l'azote « R » ou à l'hydrogène pendant **3 minutes** (***).

Dans ces conditions, nous obtenons les vagues classiques de l'arsenic. Nous avons également enregistré les courbes en polarographie dérivée, ce qui nous a permis de déterminer avec précision les potentiels de demi-palier que nous situons à **—0,43 volt pour la première vague, et —0,67 pour la seconde.**

(*) Cf. chapitre II, section III, p. 72 et 73.

(**) L'arsenic à la valence + 3 s'oxyde rapidement en solution peu concentrée, et rappelons-le, seule cette forme est dosable par polarographie dans le milieu que nous utilisons.

(***) Nous avons constaté que ce temps, bien inférieur à celui utilisé par Haight (10 minutes) était suffisant pour que l'oxygène soit complètement éliminé et que les vagues ne soient pas perturbées.

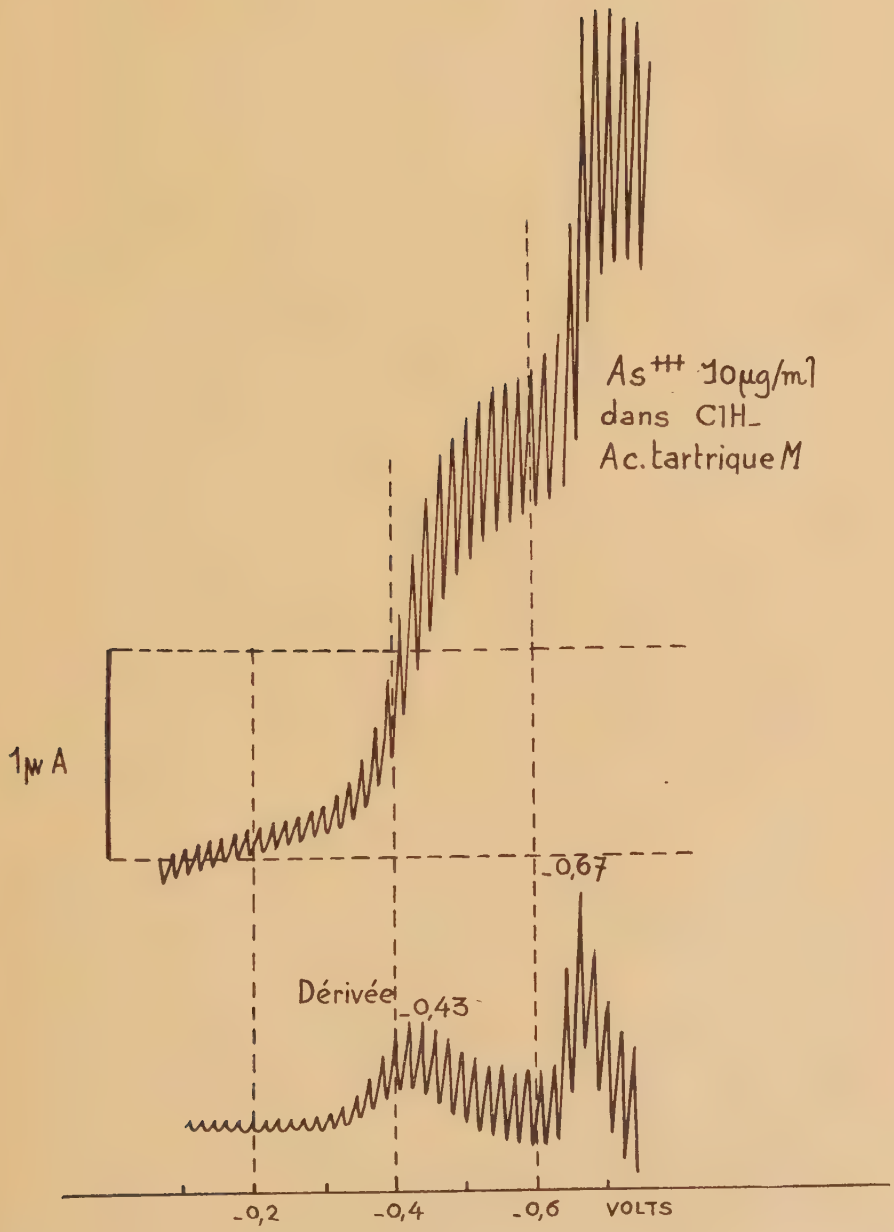

FIGURE 8

Enregistrement polarographique détaillé (courbe directe et courbe dérivée) de 10 mcg/ml d'arsenic, à la valence + 3, dans le réactif ClH M — acide tartrique M. Sensibilité 7 microampères. Filtre 1.

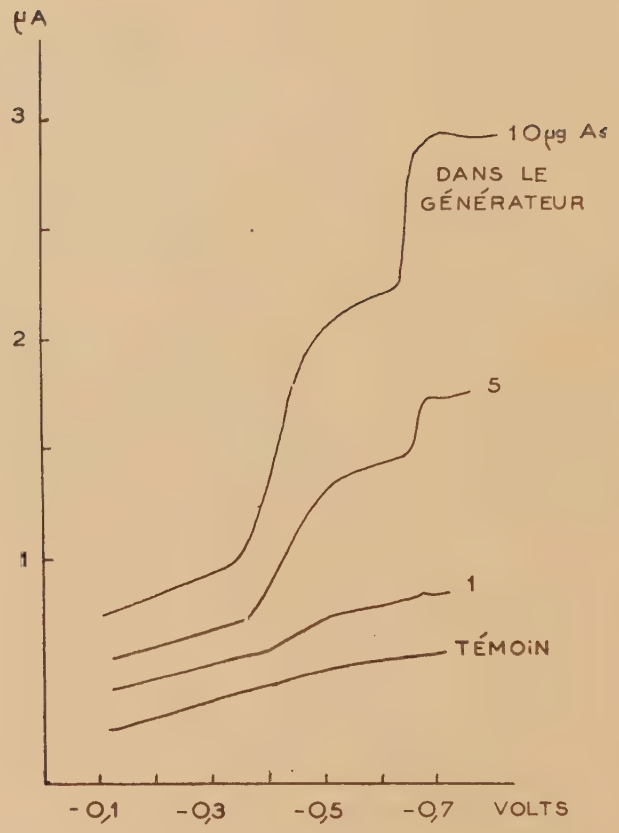

FIGURE 9

Enveloppes extérieures de plusieurs polarogrammes tracés avec des quantités variables d'arsenic placées dans le générateur.

B) DISCUSSION ET JUSTIFICATION EXPERIMENTALE DE LA TECHNIQUE

1° Minéralisation dans l'appareil de J. Pien.

La destruction est effectuée dans cet appareil en vase semi-clos, à la différence des méthodes de minéralisation sulfonitrique classiques de Deniges et de Meillère, qui se font dans une capsule ou un ballon ouvert. De ce fait, le dégagement de vapeurs nitreuses ou sulfuriques hors de l'appareil est négligeable, et, en opérant sous hotte, l'opérateur **n'est absolument pas incommodé** par ces gaz ; on peut même en reliant l'extrémité supérieure du réfrigérant à une trompe à vide, par l'intermédiaire de la cloche D (*), opérer hors d'une hotte

(*) Cf. figure 7, p. 82.

sans qu'il n'y ait aucun dégagement de vapeurs quelconque dans l'atmosphère (nous l'avons expérimenté plusieurs fois personnellement).

D'autre part, la récupération en O des **liquides de distillation** permet de les utiliser presque jusqu'à la fin de la minéralisation **pour effectuer l'attaque** (*). En conséquence, les quantités de NO_3H utilisées sont relativement faibles (25 à 30 ml de NO_3H pour 100 ml d'urines).

Cette minéralisation en vase semi-clos est aussi particulièrement précieuse pour l'arsenic, car la récupération des vapeurs **évite les pertes** possibles par volatilisation du trichlorure formé pendant les phases réductrices de l'opération (au moment des brunissements de la masse). D'ailleurs, la formation de Cl_3As est minime car on est presque constamment, avec cette façon d'opérer, en milieu oxydant, tant dans le liquide en cours de minéralisation que dans l'atmosphère de l'appareil.

D'autre part, la disposition du réservoir F et de sa tubulure d'évacuation permettent **l'introduction de réactifs froids** dans les liquides bouillant sans danger pour l'appareil : en effet, ces réactifs tombent exactement au centre des milieux de minéralisation et non pas sur les parois du ballon, Enfin, avantage qui n'est pas à négliger, la minéralisation est **plus rapide** qu'avec l'appareillage classique.

2° Isolement de l'arsenic du milieu de minéralisation.

On obtient donc, à la fin, un liquide incolore ou jaune clair contenant l'arsenic à l'état pentavalent en milieu sulfurique concentré. Dans la technique classique, on élimine alors le sulfate acide de nitrosyle formé, gênant pour la distillation ultérieure de AsH_3, en utilisant l'action de l'urée sur ce corps qui est décomposé avec dégagement d'azote ; on introduit ensuite le résidu dilué directement dans le générateur [9]. Cette façon de procéder a l'inconvénient de conserver, dans le milieu, des corps organiques à noyau aromatique tels que des phénols nitrés pratiquement impossibles à minéraliser complètement, ainsi que de nombreux sels minéraux (sulfates alcalins et alcalino-terreux ou de fer, en particulier) qui, selon Griffon, ont une influence défavorable sur le dégagement de AsH_3.

L'emploi d'une méthode du type de celle de Griffon [12, 20] avait le désavantage de compliquer les opérations et de nécessiter un appareillage supplémentaire. Nous avons préféré utiliser un procédé réalisant l'entraînement de l'arsenic au sein d'un précipité. Deux possibilités s'offraient à nous à ce point de vue :

— soit formation d'arséniate ammoniaco-magnésien insoluble en milieu alcalin et entraînement au sein d'un précipité de phosphate du même type ;

— soit adsorption sur un précipité d'hydroxyde ferrique formé dans la solution par hydrolyse de Cl_3Fe surajouté [1, 10, 17, 28].

Le premier procédé, plus ancien et très utilisé [8, 9, 13, 16, 19, 24], semblant avoir fait ses preuves, nous avons préféré l'adopter. Dans le cas des **urines, nous appliquons intégralement** la méthode proposée par Fabre et M^me^ Cismaru. Pour les autres milieux biologiques peu riches en phosphore, nous **ajoutons** au milieu, avant d'effectuer la coprécipitation, une quantité de **phosphate disodique**, telle que la concentration en ion PO_4^{-3} du milieu soit proche de la concentration moyenne des urines en cet ion. On obtient ainsi, dans tous les cas, un précipité de phosphate ammoniaco-magnésien ayant entraîné l'arsenic à l'état d'arséniate ammoniaco-magnésien.

(*) En effet, ces liquides sont des solutions nitriques assez concentrées qui attaquent parfaitement à chaud les matières organiques en milieu sulfurique.

3° **Distillation de l'arsenic, extraction et dosage polarographique.**

Nous ne dirons rien de plus sur ces points particuliers ayant déjà effectué la discussion de la méthode au chapitre précédent.

C) RESULTATS

Nous nous sommes assuré avant d'effectuer nos tests que les milieux biologiques que nous employions ne contenaient que des quantités d'arsenic normales, quantités que nous avons estimées en utilisant la méthode de Cribier. Nous avons ajouté ensuite des quantités d'arsenic connues à ces milieux. Pour les **cheveux**, afin d'éliminer les poussières les souillant et pouvant contenir de l'arsenic, nous les avons préalablement **lavés** à l'eau savonneuse, à l'eau distillée, puis à l'acétone chlorhydrique et de nouveau à l'eau distillée plusieurs fois, puis les avons fait sécher.

Voici quelques résultats de dosages :

Matériel biologique	As normal en mcg estimé par la méthode de Cribier	As total (As biologique + As ajouté) en mcg	As retrouvé en mcg	Rendements en % de l'As total
Urines (100 ml)	1,6	51,6	34	66
Cheveux (700 mg)	traces	50	34,5	69
Sang (5 ml)	traces infimes	60	44	73
- id. -	- id. -	70	47,5	68
- id. -	- id. -	80 (2 essais)	55,5 50	69 62,5
- id. -	- id. -	90 (2 essais)	64,5 62	71,5 69
- id. -	- id. -	100 (3 essais)	63 64,5 68	63 64,5 68
- id. -	- id. -	130	91	71
- id. -	- id. -	140	91,5	65
- id. -	- id. -	150	102	68

Le pourcentage d'arsenic retrouvé est donc assez constant, il oscille autour d'une valeur moyenne de **68 % ±5 %** (*). Cette valeur, si l'on tient compte des pertes possibles lors des opérations de minéralisation et d'isolement, est en concordance avec celle retrouvée par Cristau (75 %) et celle calculée par

(*) Erreur standard de la moyenne : ± 0,87. Cette grandeur statistique, ainsi que toutes celles données par la suite, a été calculée par M. Fondarai, assistant de la chaire de Physique Médicale. Nous le remercions pour la contribution qu'il a apportée à notre travail. L'erreur standard de la moyenne Sm s'obtient à partir de la formule $Sm = \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}}$ où σ est l'écart type et n le nombre d'essais effectués dans la série de mesures.

Jaulmes (80 %) en partant d'arsenic introduit directement dans le générateur et non pas de milieux biologiques.

Néanmoins, cette méthode qui répond suffisamment aux besoins de la toxicologie si l'on admet l'application d'un coefficient d'analyse de 100/68, soit 1,47, ne permet pas de retrouver la totalité de l'arsenic mis en œuvre. Aussi avons-nous voulu savoir si les méthodes anglo-saxonnes et de la Pharmacopée Internationale dont les modes opératoires sont plus proches des conditions proposées par Griffon et par Rivemale ne permettaient pas d'obtenir des rendements en arsenic supérieurs. Pour cela, la simple application du procédé polarographique de Cristau à ces méthodes fournissait un instrument d'étude commode et de valeur sûre.

D) RENDEMENTS EN ARSENIC OBTENUS PAR LE PROCEDE CLASSIQUE N'EFFECTUANT PAS L'ISOLEMENT PREALABLE PAR COPRECIPITATION

Parallèlement aux précédents essais, nous avons effectué quelques dosages de l'arsenic contenu dans des milieux biologiques **sans procéder** à l'isolement préalable à l'état d'arséniate ammoniaco-magnésien.

Nous avons utilisé la technique classique consistant à traiter à l'ébullition le minéralisat sulfurique dilué, par 0,50 g d'urée. Ce traitement a pour but d'éliminer sous forme d'azote le sulfate acide de nitrosyle formé lors de la minéralisation, qui pourrait gêner la formation ultérieure d'hydrogène arsénié. Après refroidissement on transvase le contenu du ballon dans le flacon générateur puis rince deux fois ce même ballon à l'eau distillée de manière à ce que le volume total des eaux de lavage réunies à la liqueur initiale atteigne 60 ml. Comme l'on a utilisé 7 ml (soit environ 12 g) de SO_4H_2 de densité 1,83 pour la minéralisation, la teneur en acide de la solution est donc à ce stade de 1/5 p/v (condition exigée par Cribier). On peroxyde par quelques gouttes de solution de MnO_4K à 1 p. 100 pendant 15 minutes puis décolore par l'eau oxygénée à 10 volumes. On ajoute 15 ml d'eau et 8 g de zinc en pastilles, coiffe le flacon du dispositif à dégagement et laisse la distillation s'opérer pendant une nuit au voisinage de 0° C.

Pour ces essais, nous avons utlisé des urines de lapin particulièrement riches en sels alcalins et alcalino-terreux ; les résidus de minéralisation étaient ainsi très chargés en sels insolubles. Nous avons veillé à entraîner dans les flacons générateurs la totalité de ces précipités. Les **conditions opératoires** étaient ainsi extrêmement **défavorables** à la distillation de l'hydrure.

Les prises d'essai ont été de 200 ml et nous avons ajouté à chacune une quantité connue d'arsenic préparée à partir de la solution stock d'anhydride arsénieux. Pour chaque série

d'essais provenant de mictions différentes, nous avons effectué un témoin sans ajout d'arsenic exogène, témoin qui nous a permis de connaître à la fois l'arsenic normal et pseudo-normal de l'urine et celui apporté par les réactifs. Trois témoins ont été ainsi effectués : chaque fois, nous avons retrouvé environ 1 mcg d'arsenic ; ce chiffre a donc été déduit de tous nos résultats.

Deux essais ont porté sur 100 mcg, nous avons retrouvé 41,6 et 40 mcg, soit **42 et 40** % de la dose introduite. Pour deux autres, nous avons ajouté aux urines 50 mcg, le polarographe en a accusé 18,8 et 17,7, soit **38 et 35** %.

Ces chiffres sont très loin des 68 % que permet de retrouver la méthode utilisant l'isolement préalable à l'état d'arséniate ammoniaco-magnésien. Il est donc indéniable qu'un milieu exagérément chargé en sels solubles ou insolubles et contenant des produits organiques imparfaitement minéralisés (à partir d'urines, la méthode sulfonitrique ne permet en effet que rarement d'obtenir des résidus totalement incolores) perturbe notablement le dégagement d'hydrogène arsénié. Ces résultats **confirment entièrement les conclusions de Griffon** à ce sujet, conclusions que nous avons exposées au chapitre précédent.

SECTION II

ETUDE POLAROGRAPHIQUE DES METHODES ANGLO-SAXONNES [25, 30, 31] ET DE LA METHODE DE LA PHARMACOPEE INTERNATIONALE [26]

Nos essais ont été effectués, non pas à partir de milieux biologiques, mais en introduisant directement dans les générateurs des quantités connues d'arsenic. Ce procédé simplifié suffisait en effet pour juger la valeur de ces méthodes en comparant les résultats aux chiffres obtenus par Vignoli et Cristau [5, 6].

A) TECHNIQUE OPERATOIRE

Nous ne reviendrons pas sur la description de ces méthodes que nous avons longuement traitées au premier chapitre (*). Nous avons utilisé le flacon générateur et les réactifs préconisés par chaque Pharmacopée en employant cependant, pour rendre nos essais comparables, du **zinc pur pour toxicologie en pastilles « Prolabo » dans tous les cas**. Le dispositif destiné à capter l'hydrogène arsénié propre à chaque méthode a été remplacé partout par un tube deux fois coudé, identique à celui que nous avons déjà utilisé, garni évidemment de papier desséchant et de la bandelette de papier au NO_3Ag.

Toutes les méthodes ont été testées avec de l'arsenic à la valence +3 dont les prises d'essai ont été préparées à partir de la même solution stock de As_2O_3 à 1 p. 1.000 en arsenic qui nous sert à préparer les étalons de polarographie. Ainsi nous avons pu supprimer une partie de l'erreur expérimentale et rendre nos résultats plus comparatifs. Pour la méthode de la **Pharmacopée Internationale**, en outre, nous avons effectué une

(*) Cf. chapitre I, Section V, page 42 et suivantes.

série d'essais à partir d'arsenic pentavalent préparé toujours à partir de la solution de As_2O_3 de la façon suivante :

La prise d'essai sous un volume de 0,5 ml, obtenue par dilution convenable de la solution stock, est placée dans le générateur ; on ajoute II gouttes de solution de MnO_4K à 1 p. 100, agite et abandonne 15 minutes ; la quantité de MnO_4K est suffisante pour oxyder tout l'arsenic présent car au bout de ce temps le mélange est encore teinté en rose ; on décolore alors par une goutte de solution de Cl_2Sn AsT diluée au dixième dans du ClH.

Enfin pour la méthode de la **Pharmacopée américaine,** nous avons opéré selon la technique donnée pour la préparation des bandes-étalons, c'est-à-dire directement à partir d'arsenic à la valence +3 sans période de repos préparatoire. Un essai effectué en opérant selon la technique indiquée pour les tests, s'est avéré désastreux, en effet l'action réductrice du Cl_2Sn jointe à celle de l'acide iodhydrique à des concentrations relativement hautes (le volume total de la solution n'est alors que de 15 ml), provoque l'apparition de I_3As restant plus ou moins à l'état colloïdal (*) et inattaquable par la suite sous l'action de l'hydrogène naissant. Un semblable inconvénient n'est pas apparu avec la méthode de l'A.O.A.C., où la réduction préalable s'effectue sur une solution beaucoup moins concentrée (volume total 40 ml).

Signalons également que nous avons effectué un **essai à blanc** pour chacune des méthodes afin de nous permettre d'évaluer l'arsenic apporté par les réactifs. Le résultat trouvé a été de l'ordre de **0,7 mcg** (**). Les chiffres donnés dans les tableaux suivants ont **tenu compte** de cet arsenic des réactifs.

(*) Le milieu devient trouble et de couleur orangée.

(**) Nous parlons ici d'évaluation et non de dosage car pour des doses aussi petites la précision de la méthode polarographique n'est pas excellente. On est obligé en effet d'utiliser de grandes sensibilités, ce qui produit un courant résiduel important et la vague est partiellement fondue dans la montée générale de la courbe.

B) RESULTATS

	Arsenic placé dans le générateur (en mcg)	Arsenic retrouvé en valeur absolue (en mcg)	Rendements en % de l'arsenic testé	Rendement moyen et écart maximum
British Pharmacopoeia As^{+3}	5 (1 essai)	4,2	84	82 % ± 7 %(*)
	10 (6 essais)	8,6 8,1 8,1 8,4 8,4 7,4	86 81 81 84 84 74	
	20 (8 essais)	16,3 16,1 16,2 15,3 15 8 15,3 15,3 14,8	82 80 81 76 79 77 76 74	
	50 (4 essais)	44,3 42,5 44,3 41,8	89 85 88 84	
	100 (8 essais)	82 82 84,5 78 90,3 83,8 89,8 89,3	82 82 85 78 90 84 90 89	
Pharmacopée Internationale As^{+3}	5 (4 essais)	4,2 4,3 4,15 4,15	84 86 83 83	88 % ± 5 %(**)
	10 (4 essais)	8,9 8,6 8,9 9,2	89 86 89 92	
	20 (4 essais)	18,7 18,5 17,1 18.2	93 93 86 91	
	50 (3 essais)	43,3 44,3 43,8	87 88 88	
	100 (3 essais)	90,4 92,1 93,5	90 92 93	
Pharmacopée Internationale As^{+5}	5 (6 essais)	4,2 4,3 4,5 4,15 4,15 4,15	84 86 90 83 83 83	87 % ± 5 % (***)
	10 (4 essais)	9,2 8,6 8,9 9,2	92 86 89 92	
	20 (4 essais)	17,1 17,5 17.5 18	86 87 88 90	
	50 (4 essais)	43,3 43 45,3 45,3	86 86 91 90	
	100 (4 essais)	83,5 86,8 87,5 90	33 87 87 90	

(*) Erreur standard ± 0,94.
(**) Erreur standard ± 0,82.
(***) Erreur standard ± 0,65.

	Arsenic placé dans le générateur (en mcg)	Arsenic retrouvé en valeur absolue (en mcg)	Rendements en % de l'arsenic testé	Rendement moyen et écart maximum
Méthode de l'A.O.A.C. As^{+3}	10 (3 essais)	8,4 8,7 8,8	84 87 88	86 % ± 4 % (*)
	20 (3 essais)	18,1 16,9 17,8	90 85 89	
	50 (2 essais)	42,5 42	85 84	
U.S. Pharmacopoeia As^{+3}	10 (2 essais)	8,6 9,2	86 92	87 % ± 5 % (**)
	20 (2 essais)	17,1 17,4	85 87	

METHODE DE CRIBIER As^{+5} (***)

Arsenic placé dans le générateur (en mcg)	Arsenic retrouvé en valeur absolue (en mcg)	Rendements en % de l'arsenic testé	Rendement moyen et écart maximum
5 (3 essais)	3,75 3,85 3,65	75 77 73	75 % ± 4 % (****)
10 (3 essais)	7,3 7,8 7,5	73 78 75	
20 (3 essais)	15,2 15,8 15,6	76 79 75	
40 (1 essai)	30	75	

(*) Erreur standard ± 0,88.

(**) Erreur standard ± 3,52.

(***) Ces résultats ne font pas partie de notre travail personnel. Ils ont été déterminés par B. Cristau [5,6], nous ne les donnons ici qu'à titre comparatif.

(****) Erreur standard ± 0,65.

C) DISCUSSION ET COMMENTAIRES DES RESULTATS

L'ensemble des rendements en arsenic fournis par ces techniques est assez homogène; ils sont **systématiquement supérieurs** à ceux obtenus avec une méthode type Cribier en utilisant le même zinc.

La méthode de la **Pharmacopée Internationale** donne les résultats les **meilleurs** et surtout les moins dispersés. Or cette méthode est la seule des quatre étudiées à ne pas utiliser l'iodure comme adjuvant de réduction. D'autre part, nous avons déjà constaté à propos de la méthode de la **Pharmacopée américaine** que la présence concomitante de IK et de Cl_2Sn dans le milieu à des concentrations assez élevées provoquait une perte sérieuse en arsenic par insolubilisation à l'état de I_3As. Il est possible que dans les méthodes anglo-saxonnes qui, toutes, emploient l'iodure, la précipitation de ce composé ne soit pas macroscopiquement apparente mais néanmoins diminue le rendement. D'ailleurs, c'est la méthode de la **Pharmacopée anglaise**, dont la seule différence avec celle de la **Pharmacopée Internationale** est justement la présence d'iodure, qui fournit les résultats les plus bas et les plus dispersés (*).

Il est vraisemblable que si nous avions effectué des dosages à l'aide de la méthode de la Pharmacopée Internationale en partant de milieux biologiques, les rendements auraient été de l'ordre de 80 %, en admettant une perte de 7 à 8 % pour les opérations de minéralisation et d'isolement de l'arsenic préalables.

C'est pourquoi nous avons tenu compte de ce procédé pour l'établissement de notre méthode personnelle de dosage.

Signalons pour terminer que c'est à propos de ces essais que nous avons précisé deux points des méthodes de Haight et de Vignoli et Cristau.

Le premier concerne l'emploi du réactif chlorhydrique-tartrique molaire :

nous avons voulu essayer des électrolytes support de concentrations différentes :

— un milieu ClH 2M, acide tartrique 2M, donc de concentration double; les résultats furent catastrophiques : la loi de Ilkovic n'est plus suivie, la courbe présente des maxima, la deuxième vague disparaît;

— un milieu ClH M, acide tartrique 2 M fournit un pola-

(*) Cette méthode de la Pharmacopée anglaise ayant été adoptée ainsi modifiée par la Pharmacopée Internationale, il est probable que d'autres auteurs avant nous ont dû se rendre compte de l'effet défavorable de l'iodure.

rogramme correct, mais la hauteur de la première vague est diminuée, ce qui est vraisemblablement dû à l'augmentation de la viscosité du solvant et donc à la diminution de la constante de l'équation de Ilkovic : un essai effectué avec 10 mcg d'arsenic a fourni une hauteur de vague de 45 mm alors que nous avons obtenu 51 mm dans le milieu normal de Haight, toutes choses étant égales par ailleurs.

Nous avons conclu qu'il n'y avait aucun intérêt, au contraire, à modifier le milieu de Haight et avons continué à l'employer jusqu'à la fin de ce travail.

Le deuxième point a trait à la température à laquelle on pratique l'extraction du papier. Nous nous sommes aperçu qu'une **extraction à la température ambiante** était **aussi efficace** qu'une **extraction à +75° C** et avait l'avantage de **diminuer le courant résiduel**, ce qui augmentait légèrement la sensibilité de la méthode.

Nous avons effectué divers essais comparatifs lors de l'étude des méthodes américaines, en voici les résultats :

	Arsenic placé dans le générateur (en mcg)	Arsenic retrouvé (en mcg)	
		Extraction à +75° C	Extraction à la température ambiante
Méthode de l'A.O.A.C	10	8,5	8,4
	20	18 16,9	17,8
Méthode de l'U.S.P.	10	8,6	9,2
	20	17,1	17,4

C'est pourquoi pour la suite de notre travail, nous avons adopté définitivement l'extraction à la température ambiante ce qui rend inutile l'emploi de tubes bouchés émeri (*), en portant cependant, par précaution, la durée de l'extraction de 10 à 15 minutes.

(*) Leur usage en effet était destiné à éviter seulement la concentration du milieu lors du chauffage, la perte d'arsenic par distillation de trichlorure n'étant pas à craindre car ce métalloïde est complexé dans le milieu par l'acide tartrique.

SECTION III

EXPOSE ET RESULTATS DE NOTRE METHODE PERSONNELLE DE DOSAGE DE L'ARSENIC

Nous avons recherché une méthode d'hydrogénation susceptible de fournir un rendement optimum en hydrogène arsénié distillé. Pour cela, nous avons adopté un protocole s'inspirant des travaux antérieurs que nous avons exposés et réunissant les avantages offerts par des techniques souvent fort différentes. C'est ainsi que nous avons retenu :

a) **la réduction préalable** de l'arsenic à la **valence +3** (travaux anglo-saxons);

b) la génération d'hydrogène par action de **l'acide chlorhydrique** sur le zinc (travaux anglo-saxons);

c) l'emploi d'un **volume initial aussi réduit** que possible (travaux de Jaulmes et Rivemale);

d) **l'ajout fractionné d'acide** (travaux de Griffon et de Jaulmes);

e) **l'élévation de la température** du générateur (méthodes anglo-saxonnes et de la Pharmacopée Internationale);

f) **l'élimination des impuretés gênantes** (sulfate de calcium, produits organiques résultant de la minéralisation) en purifiant le milieu à l'aide de la coprécipitation (travaux de Griffon et de Fabre et Truhaut);

g) l'emploi d'un **appareil en verre à joints rodés** pour éliminer toutes les pertes possibles par fuite extérieure;

h) la **réduction au maximum du volume parasite** de l'appareil de manière à ce que la totalité de l'hydrure arrive au contact du papier réactif (méthodes de Jaulmes et Turpin et des Pharmacopées anglo-saxonnes).

Nous avons voulu tout d'abord essayer une telle méthode à partir d'arsenic placé directement dans les générateurs avant de l'appliquer à une recherche toxicologique. Ce sont ces premiers essais que nous allons exposer maintenant.

A) ETABLISSEMENT DE LA METHODE POUR LE DOSAGE DE L'ARSENIC A LA VALENCE +3

Nous nous sommes tout d'abord adressé à ces ions car, de l'avis général [et nous avons pu le vérifier (*)] leur transformation en arsine est plus facile.

Les conditions opératoires, que nous nous étions fixées, prévoyaient :

— maintien de l'arsenic à la valence + 3 par l'emploi de Cl_2Sn .
— prise d'essai sous un volume de 1 ml ;
— ajout d'acide chlorhydrique par fractions tout le temps du dégagement ;
— température de + 40° C, ainsi que le préconise la Pharmacopée Internationale ;
— emploi de flacons générateurs de 50 ml de capacité (**).

1° Technique opératoire

a) Distillation de l'hydrogène arsénié

Réactifs utilisés :

— solution stock de As_2O_3 à 1 p. 1.000 p/v en arsenic dans ClH N;
— acide chlorhydrique stanneux préparé par addition au moment de l'emploi de 1 p. 100 de Cl_2Sn (***) à du ClH fumant pour analyses RP, d : 1,18;
— zinc en pastilles pour toxicologie R.P.;
— papier réactif au NO_3Ag préparé selon la technique indiquée précédemment à partir de papier Arches 302 lavé à l'eau sulfurique, séché, puis imprégné de solution à 5 p. 100 de NO_3Ag pour analyses R.P. et à nouveau séché.

Matériel :

Le générateur est constitué par un flacon de 50 ml à large ouverture en verre pyrex. Il est coiffé d'un bouchon de caoutchouc percé de 2 trous. Par l'un passe la douille d'un petit entonnoir dont l'extrémité a été recourbée vers le haut et effilée de manière à se terminer en semi-capillaire. Celle-ci doit arri-

(*) Cf. résultats obtenus à l'aide de la méthode de la Pharmacopée Internationale, chapitre III, section II, p. 95.

(**) Ne disposant pas encore des appareils en verre rodé, nous avons utilisé pour cette série d'expériences des appareils à joints de caoutchouc que nous paraffinions avant chaque essai. La bande de papier réactif est désormais disposée non plus selon l'axe du tube à dégagement mais *plissée* en accordéon de manière à offrir aux gaz une série de surfaces successives presque *perpendiculaires* à leur direction.

(***) Chlorure stanneux préparé selon la technique de la Pharmacopée Internationale (cf. chapitre I, section V, p. 43, note) mais titré et ajusté de manière à ce que 1 ml réduise un volume de solution de I_2 0,1 N compris entre 15 et 20 ml.

ver environ au niveau de la partie médiane du flacon générateur. Par l'autre trou passe le tube à dégagement constitué comme celui de la méthode de Cristau par une canne de verre de 5 mm de diamètre intérieur partant d'abord verticalement vers le haut pour prendre ensuite une position horizontale et se retrouver enfin, après une seconde courbure, dans une direction verticale descendante. Ce tube est interrompu vers le milieu de sa partie horizontale et au début de sa portion verticale descendante par deux raccords en caoutchouc, interruptions permettant l'introduction des papiers desséchant et réactif. Son extrémité proximale doit affleurer la base inférieure du bouchon de caoutchouc et la distale est légèrement effilée.

Mode opératoire :

Le flacon générateur est garni tout d'abord de 5 g de zinc. Le papier desséchant est celui préconisé par Griffon [11] et déjà utilisé (*); il est introduit dans la partie horizontale du tube à dégagement. La bandelette de papier au NO_3Ag de 6 mm × 100 mm est placée dans la partie descendante où elle est plissée. Toutes les jonctions verre-caoutchouc sont alors soigneusement paraffinées et l'appareil est placé dans un B.M. à thermostat réglé à +40° C de manière à ce que l'eau immerge le flacon générateur jusqu'aux deux tiers de sa hauteur. Les tubes à dégagement sont isolés du B.M. par un carton d'amiante.

On introduit alors par l'entonnoir la prise d'essai de 1 ml préparée par dilution convenable dans ClH N, de la solution stock d'anhydride arsénieux. On ajoute 1 ml d'eau distillée servant à rincer l'entonnoir et, aussitôt après, 1 ml de ClH stanneux. Lorsque le dégagement gazeux commence à se ralentir, on introduit à nouveau 1 ml de ce réactif et répète encore deux fois cette opération. Lors de la dernière addition, on laisse le dégagement d'hydrogène se terminer avant de prélever le papier.

b) **Extraction de l'arsenic et dosage polarographique**

Nous ne reviendrons pas sur ce stade que nous avons déjà décrit. Précisons tout de même que l'extraction a été effectuée à la température ordinaire pendant 15 minutes et a été suivie d'un refroidissement de 5 minutes dans la glace fondante.

(*) Cf. chapitre III, section I, p. 85, note.

2° **Discussion et justification expérimentale de la technique -**

Générateur.

Nous avons adopté 50 ml comme volume minimum utile. Nous avons effectué, en effet, quelques essais en utilisant des flacons de 15 ml, voulant réduire encore le volume nuisible, mais les résultats se sont révélés très mauvais. En effet, les gaz, surtout lors des additions de ClH, se dégagent assez violemment et le volume réduit de l'appareil ne leur permet plus alors de se détendre suffisamment pour arriver à vitesse relativement faible au contact du papier réactif. Celui-ci se trouve rapidement saturé en surface et il y a une perte importante d'hydrogène arsénié qui passe au delà du papier sans être retenu.

C'est ainsi que pour une dose de 50 mcg mise dans le générateur, nous avons retrouvé, avec de tels appareils, 75, 86, 68, 84 et 41 % seulement de la dose mise en œuvre.

L'emploi d'un entonnoir à extrémité effilée et recourbée pour l'introduction de la prise d'essai et du réactif, permet **d'éviter la perte de gaz** par cette voie. En effet, il persiste toujours dans le semi-capillaire une colonne de liquide d'environ 1 cm qui s'oppose à tout passage des gaz. Lors d'essais préliminaires, nous avons essayé un entonnoir à longue douille arrivant au fond du flacon au contact du verre tel que celui décrit par Jaulmes et Turpin [15]. Des pertes de gaz étaient visibles macroscopiquement, car ni le fond du flacon ni l'extrémité de la douille ne sont rigoureusement plans. Aussi avons-nous adopté le dispositif décrit.

Mode opératoire :

L'emploi de 4 ml de ClH stanneux ajouté par fractions de 1 ml se justifie par notre désir de satisfaire à l'impératif théorique imposé par Jaulmes et Rivemale [14, 29]. Nous l'avons vu, ces auteurs pensent que, pour que 99 % de l'arsenic sous forme trivalente soit dégagé d'une solution, il faut que le volume d'hydrogène distillé soit au moins égal à 80 fois le volume de celle-ci (*). Or, le volume final du liquide est ici de 6 ml environ (2 ml pour la prise d'essai et l'eau de lavage, 4 ml de ClH stanneux) ; le volume d'hydrogène nécessaire est donc de 480 ml. Le volume de ClH total introduit est 4.10 ml (**). La densité de ce ClH étant de 1,18, le poids de 4,10 ml est de 4,84 g. Or, le ClH fumant est une solution aqueuse contenant environ 36.5 p. 100 de ClH gaz : la quantité de ClH gaz contenue dans les 4.10 ml est donc : $4{,}84 \times 0{,}365$, soit 1,77 g. D'après la réaction :

$$2\ ClH + Zn \rightarrow Cl_2Zn + H_2$$

73 g de ClH agissant sur du zinc produisent 22.400 ml d'hydrogène, donc les 1,77 g utilisés en fournissent 543, volume supérieur aux 480 ml nécessaires d'après la théorie de Jaulmes-Rivemale.

Le chlorure stanneux a pour effet de maintenir l'arsenic en solution à l'état trivalent et joue aussi vraisemblablement un rôle catalytique sur la formation de l'hydrogène, car nous avons constaté que la réaction était plus lente si l'on supprimait ce réactif.

Le poids de zinc employé enfin est légèrement supérieur à la quantité stoechiométrique nécessitée par la réaction écrite plus haut.

(*) Nous avons généralisé ces conclusions destinées à des méthodes utilisant l'action de l'acide sulfurique sur le zinc tels les procédés de Marsh ou de Cribier, à notre propre méthode utilisant l'acide chlorhydrique. L'expérience nous a montré qu'une telle extrapolation était tout à fait valable.

(**) 4 ml introduits au cours de l'opération et 0,10 ml apportés par la prise d'essai qui est ClH N. En effet le ClH fumant pour analyses est approximativement 10 N.

Il est évident que du fait de la disposition du papier réactif nous n'obtenions pas une tache continue mais plusieurs taches séparées par des parties non impressionnées. Ceci n'a aucune importance puisque nous ne nous attachons pas à une évaluation comparative des longueurs de taches mais opérons ensuite une extraction de l'arsenic fixé au niveau de celles-ci. Nous isolons donc ces parties noircies et les traitons par le procédé habituel.

3° Résultats

Un **essai à blanc** a permis de trouver environ **0,25 mcg** pour l'arsenic des réactifs (*). Ce chiffre a été constamment retranché des résultats trouvés et le tableau ci-après en tient compte.

Quantité d'As^{+3} introduite dans le générateur (en mcg)	Arsenic retrouvé (en mcg)				Rendements en % de l'arsenic testé			
2 (3 essais)	1,75	1,40	1,05		87	70	53	
5 (4 essais)	5	4,7	4,75	4,75	100	94	95	95
10 (4 essais)	9,5	9,9	9,65	9,35	95	99	96	94
20 (3 essais)	18,75	19,5	19,25		94	97	96	
50 (4 essais)	48,1	48,4	49,3	49,7	96	97	99	99
100 (3 essais)	99,7	97	99,9		100	97	100	

Si l'on fait exception des quantités d'arsenic inférieures à 5 mcg pour lesquelles les conditions du dosage polarographique rendent la méthode moins précise (*), on retrouve donc en moyenne **97** % de l'arsenic à doser avec un écart maximum de ± 3 % (**). Nous ne pensons pas que l'on puisse améliorer un tel résultat avec l'appareil enregistreur que nous utilisons car nous sommes limité par la précision même de la méthode polarographique qui, nous l'avons vu, est de l'ordre de 2 %.

Ce mode opératoire et cet appareillage nous ont donc permis d'atteindre le but que nous nous étions fixé, à savoir doser effectivement par une méthode utilisant la distillation d'hydrogène arsénié et un papier réactif, la totalité de l'arsenic présent dans une prise d'essai sans être obligé d'effectuer des comparaisons de longueurs de tache ou d'employer un coefficient d'analyse, procédés entachés d'une imprécision notable.

Comme notre méthode s'était avérée fructueuse avec l'arse-

(*) Cf. chapitre III, section II, p. 94, note.

(**) Erreur standard $\pm$ 0,50.

nic à la valence +3, nous avons voulu l'adapter au dosage de l'arsenic pentavalent car seule cette forme est présente dans les milieux de minéralisation.

B) ETABLISSEMENT DE LA METHODE POUR LE DOSAGE DE L'ARSENIC PENTAVALENT

1° Travaux préliminaires

Préparation de la solution stock d'arsenic pentavalent

Nous n'avons pas voulu utiliser comme base du matériel à examiner la solution stock d'anhydride arsénieux préparée pour les essais précédents en l'oxydant par le MnO_4K, de peur que l'introduction dans le générateur de sels de manganèse perturbe la distillation de l'arsine. Nous avons préféré nous adresser à l'arséniate de soude pour analyses R.P., AsO_4Na_2H, 7 OH_2 dont nous avons préalablement dosé la teneur en arsenic par la méthode indiquée par le Codex [4]. Pour ne pas alourdir notre exposé, nous ne décrirons pas cette méthode classique, mais précisons que nous avons titré la solution de I_2 0,1 N utilisée par rapport à notre propre solution stock d'anhydride arsénieux ce qui, en définitive, nous permet d'opérer sur des quantités d'arsenic toujours évaluées à l'avance par rapport au témoin utilisé pour le dosage polarographique et ainsi de diminuer l'erreur instrumentale et personnelle. Le sel que nous avons utilisé contenait 24,04 % d'arsenic.

Dans ces conditions, nous avons préparé une solution stock d'arsenic pentavalent à 250 mcg/ml par dissolution de 0.520 g de sel titré dans 500 ml de ClH N. Nous avons préparé avant chaque dosage les prises d'essai en diluant un volume convenable de cette solution stock dans du ClH N.

Construction d'un générateur en verre à joints rodés.

Ayant constaté que le caoutchouc des bouchons et joints de nos appareils, soumis à des traitements répétés à la paraffine fondue avait tendance à se modifier et à perdre sa souplesse, et craignant qu'une telle modification soit génératrice de pertes, nous avons fait construire des appareils entièrement en verre, munis de joints rodés dont nous précisons les normes ci-après (fig. 10). L'usage de ces appareils a également l'avantage de supprimer le fastidieux paraffinage préalable. Nous nous en sommes désormais servi exclusivement.

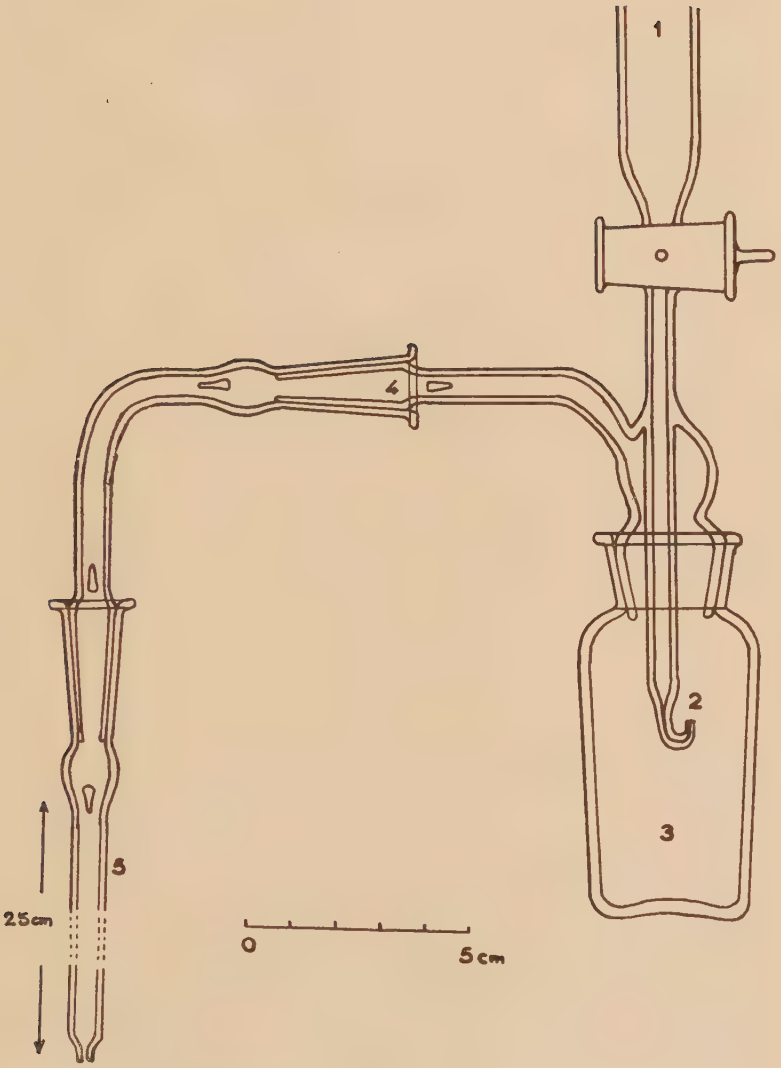

FIGURE 10

Générateur à hydrogène, utilisé pour la distillation de l'hydrogène arsénié et de l'hydrogène antimonié.

1. *Tube entonnoir servant à l'introduction de la prise d'essai et des réactifs, capacité 10 ml environ.*
2. *Extrémité effilée en semi-capillaire et recourbée, contenant en permanence environ 1 cm de liquide.*
3. *Flacon générateur en verre Pyrex, à large ouverture, capacité 50 ml.*
4. *Tubulure à dégagement recevant le papier desséchant, interrompue à 50 mm du premier coude par un rodage permettant l'introduction de ce papier, diamètre intérieur 5 mm.*
5. *Tube recevant le papier réactif au NO_3Ag plissé perpendiculairement à l'axe, diamètre intérieur 5 mm, longueur 250 mm.*

Utilisation de « Zinc Merck pour usage judiciaire ».

Nos premiers essais ont consisté à appliquer simplement le mode opératoire précédemment décrit pour l'arsenic trivalent avec les mêmes réactifs et en particulier le « Zinc en pastilles Prolabo », en augmentant évidemment le volume d'acide chlorhydrique stanneux employé de telle façon qu'il soit en accord avec les prévisions de Jaulmes et Rivemale (*) [14, 29].

Les résultats obtenus ne furent pas concluants :

Quantité d'As^{+5} introduite dans le générateur (en mcg)	Arsenic retrouvé (en mcg)			Rendements en % de l'arsenic testé		
50 (7 essais)	47,2	44,6	42	94	89	84
	47,3	46,6	44,5	95	93	89
		46,5			93	
20 (15 essais)	16,3	18	17,5	81	90	88
	17,3	18,5	18,5	86	93	92
	18	17,8	18,2	90	89	91
	17,7	17,7	18,5	88	88	93
	19,5	18,5	17	97	93	85
10 (3 essais)	8,4	9	8	84	90	80

Le rendement moyen était faible (89 %) et l'écart entre les chiffres extrêmes important (17 %).

Nous avons alors employé du **« Zinc Merck pour usage judiciaire »** en bâtons de 3 mm de diamètre. B. Cristau avait déjà effectué certains essais du type Cribier avec ce zinc; les rendements avaient été nettement inférieurs à ceux obtenus en utilisant le zinc en pastilles « Prolabo ». En revanche l'emploi de ce zinc allemand nous a donné personnellement toute satisfaction. Peut-être faut-il penser que ce dernier, très utilisé par les Anglo-Saxons, est préparé pour être employé avec des méthodes chlorhydriques alors que le zinc français l'est en fonction d'un usage en milieu sulfurique ? Les conditions de température peuvent être également invoquées pour expliquer cette différence : les essais type Cribier s'effectuaient dans les deux cas à la température de l'eau glacée alors que les nôtres se font à +40° C. Nous avons voulu aussi savoir si des différence physiques de structure ou la présence d'impuretés à doses

(*) Pour obtenir un rendement de 99 %, le volume d'hydrogène dégagé doit être au moins égal à 115 fois le volume de la solution lorsqu'il s'agit de distiller de l'arsenic pentavalent à l'état d'hydrogène arsénié. Nous faisons ici la même restriction que celle que nous avons déjà énoncée à propos de l'arsenic trivalent (cf. note p. 102).

infinitésimales ne permettaient pas d'expliquer ces phénomènes; nous verrons en annexe du présent chapitre que l'analyse spectrographique a permis de prouver que ces deux zinc n'étaient pas rigoureusement identiques à ce dernier point de vue.

2° **Technique opératoire**

Les réactifs sont les mêmes que ceux utilisés pour le dosage de l'arsenic à la valence +3, sauf le zinc Merck dont nous avons déjà parlé.

L'appareil dans lequel on a préalablement placé 7 g de zinc fractionné en tronçons adéquats, est surmonté du système à dégagement garni de ses papiers réactif et desséchant ; il est placé dans le B.M. thermostaté réglé à +40° C. On introduit en une seule fois la prise d'essai sous un volume de 5 ml, puis à deux reprises 1 ml d'eau distillée pour rincer le tube d'introduction. On ajoute alors 1,5 ml de ClH stanneux puis lorsque le dégagement d'hydrogène commence à se ralentir, à nouveau 1,5 ml de ce réactif. On procède de même en introduisant ensuite successivement les volumes suivants de ClH stanneux :

3 ml
3 ml
2,5 ml
2 ml
2 ml

On introduit donc au total 15,5 ml de réactif. On continue ensuite exactement de la même façon que pour le dosage de l'arsenic trivalent (Cf. p. 101).

3° **Discussion et justification expérimentale de la technique**

Nous avons déjà parlé du générateur et de la qualité du zinc, nous n'y reviendrons pas. Notons tout de même que la longueur inhabituelle du tube à dégagement est destinée à permettre une détente convenable des gaz avant leur arrivée au contact du papier. Cet allongement du tube nous a permis de réaliser cette détente sans augmentation importante du volume nuisible du générateur.

Les quantités de ClH stanneux et de zinc employées ont été calculées par un raisonnement analogue à celui que nous avons fait précédemment (*). Cependant, l'introduction progressive du réactif par volumes croissants et non plus égaux a été motivée par notre désir de nous maintenir le plus possible dans le voisinage de la concentration en acide utilisée dans la méthode de la Pharmacopée Internationale (**) car, de toutes les méthodes que nous ayions étudiées, c'est elle qui fournit les meilleurs résultats. De ce fait, nous avons été obligé d'augmenter la quantité de réactif ajoutée en fonction de l'augmentation du volume réactionnel.

(*) Cf. p. 102.

(**) 10 ml de ClH stanneux à 36,5 p. 100 environ de ClH gaz dans un volume total de 60 ml.

Un autre point qui mérite également d'être expliqué, est l'augmentation de volume de la prise d'essai de 1 à 5 ml par rapport à la méthode précédente. Nous avons pensé, en effet, que si un volume aussi minime était, certes, favorable à la distillation totale de l'hydrogène arsénié, il était bien difficile d'amener l'arsenic contenu dans un résidu de minéralisation sous un aussi faible encombrement. Aussi avons-nous préféré adopter un volume de 5 ml, de manipulation plus commode. Ceci explique également la concentration de la solution-mère d'arséniate à 250 mcg/ml et non pas 1 mg/ml comme la solution de As_2O_3. Une telle concentration permet la manipulation de volumes quatre fois plus grands pour la préparation des prises d'essai, donc réduit l'erreur instrumentale ; d'autre part, 250 étant un multiple de 5, ceci évite également la prise de fractions de dixièmes de ml, toujours difficiles à mesurer même avec une pipette de précision.

Notre méthode de dosage apporte donc, à notre avis, toutes les garanties nécessaires pour obtenir un dégagement total de l'hydrogène arsénié et sa fixation intégrale par le papier réactif :

— **petit volume réactionnel mais compatible avec les nécessités de l'isolement préalable** de l'arsenic et avec la quantité de réactif nécessaire;

— volume de réactif **satisfaisant aux règles de Jaulmes et Rivemale;**

— addition de l'acide par **ajouts successifs** en conservant le plus possible une **concentration constante;**

— **volume de l'appareil réduit au minimum** tout en assurant une **détente** convenable des gaz avant leur contact avec le papier;

— **poids de zinc** utilisé permettant une **consommation totale** du ClH introduit;

— **réduction de l'arsenic pentavalent à la valence +3** en même temps que sa transformation en arsine s'effectue;

— **température** du milieu réactionnel relativement **élevée.**

4° **Résultats**

Comme précédemment, nous avons effectué un dosage **à blanc** pour tester les réactifs; nous avons obtenu environ **0,4 mcg** d'arsenic; nous donnons dans le tableau suivant, de même que plus haut, les résultats nets :

Quantité d'As^{+5} introduite dans le générateur (en mcg)	Arsenic retrouvé (en mcg)	Rendements en % de l'arsenic testé
1 (4 essais)	0,85 0,65 0,75 0,75	85 65 75 75
2 (2 essais)	1,95 2,00	97 100
5 (4 essais)	4,85 4,75 4,95 4,75	97 95 99 95
10 (5 essais)	9,7 9,85 9,85 9,6 9,85	97 98 99 96 98
20 (4 essais)	19,4 19,6 19,6 19,4	97 98 98 97
50 (4 essais)	49,1 49 48,4 47,6	98 98 97 95
100 (4 essais)	94,5 97 99,6 97	94 97 100 97

On peut remarquer dans ce tableau que nous avons obtenu des résultats corrects pour 2 mcg alors que cette quantité était située hors des limites de la méthode lors des dosages effectués à partir d'arsenic trivalent. Ceci n'est vraisemblablement pas dû à l'amélioration des conditions opératoires de distillation de AsH_3 mais plutôt à un changement de filtre lors du tracé du polarogramme. En effet, jusqu'à présent, nous avions toujours effectué les dosages en utilisant le filtre 1 ce qui, rappelons-le, donne l'enregistrement de la totalité du courant pendant la vie de la goutte de mercure; ainsi en opérant aux hautes sensibilités (5 et 2 μA) les oscillations du tracé sont importantes et la vague est fondue dans la montée générale de la courbe et ainsi difficilement lisible avec précision. Pour les dosages actuels sur 2 mcg, nous avons employé le filtre 2; ceci permet de n'avoir qu'un enregistrement du courant moyen, la plume inscriptrice est animée d'oscillations beaucoup moins grandes, ce qui charge moins le tracé et l'évaluation de la hauteur de vague est possible avec une bonne précision. Certes, cette hauteur de vague est un peu diminuée par rapport à celle que l'on devrait obtenir théoriquement, mais ceci est sans importance puisque l'on opère toujours comparativement au témoin enregistré dans les mêmes conditions. Nous pensons donc qu'il est avantageux pour les faibles doses d'opérer avec un filtre 2 (*).

(*) Ceci est valable uniquement pour l'appareil que nous avons employé (polarographe enregistreur Meci type LX). Nous n'avons pas la pratique d'autres instruments.

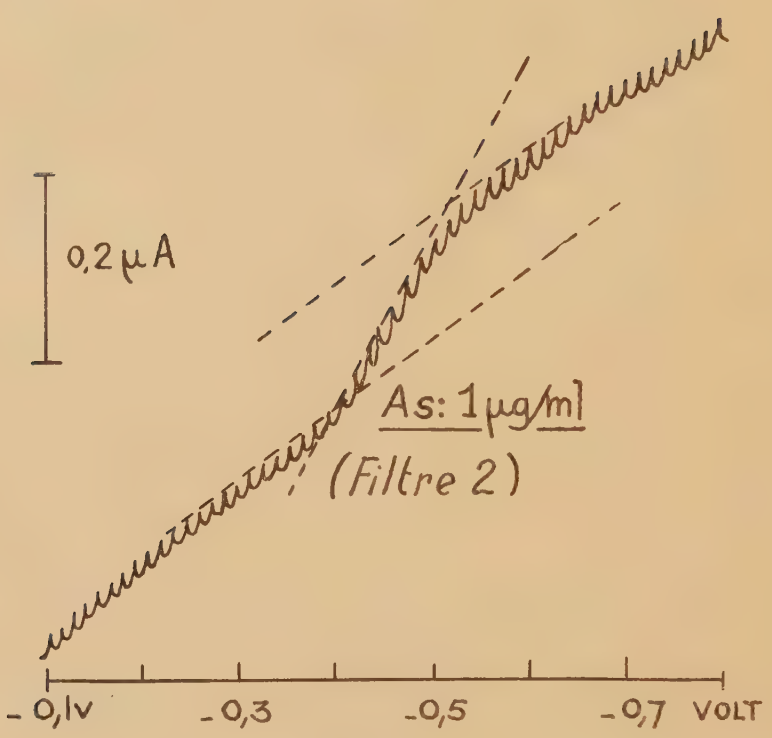

FIGURE 11

Enregistrement polarographique direct de 1 mcg/ml d'arsenic à la valence + 3. Sensibilité 2 microampères Filtre 2.

En revanche, il ne nous a pas été possible de descendre au-dessous de cette dose même en employant le filtre 2; nos résultats pour 1 mcg sont d'une imprécision manifeste (20 % de marge entre les chiffres extrêmes).

Donc, entre 2 et 100 mcg, nous avons retrouvé **97 % ± 3 %** de la dose testée, moyenne et écart maximum exactement identiques (*) à ceux que nous avions trouvés pour l'arsenic à la valence +3.

Nous pensons donc que notre méthode permet de retrouver pratiquement la **totalité** de l'arsenic introduit dans le générateur, que sa **précision et sa reproductibilité** sont nettement **meilleures** que celles de toutes les méthodes utilisant la transformation de l'arsenic en AsH_3 et enfin que sa **sensibilité est**

(*) Mais l'erreur standard est différente : ± **0,33** au lieu de **0,50**.

suffisante pour les besoins de la toxicologie courante. Aussi l'avons-nous appliquée au dosage de l'arsenic contenu dans les milieux biologiques.

SECTION IV

APPLICATION A LA TOXICOLOGIE : RECHERCHE ET DOSAGE DE L'ARSENIC CONTENU DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

Pour atteindre ce but, il convenait simplement de faire précéder notre méthode de distillation et de dosage de l'arsine par la technique de minéralisation et d'isolement employée lors de l'évaluation du rendement de la méthode de Cribier appliquée aux milieux biologiques (*). Cependant, nous avons apporté quelques modifications à ce procédé, soit qu'elles nous aient paru être des améliorations, soit qu'elles aient été nécessitées par une adaptation à notre procédé de distillation de l'hydrogène arsénié.

A) MODIFICATIONS APPORTEES A LA TECHNIQUE DE MINERALISATION ET D'ISOLEMENT PREALABLE

1° Minéralisation sulfonitrique dans l'appareil de Pien

Nous avons adopté non plus la méthode précédemment employée mais un procédé inspiré de celui décrit par J. Pien [27] à propos de l'utilisation de son appareil.

Tous les essais ont été effectués sur 200 ml d'urines de lapin. Celles-ci, ayant reçu la prise d'essai sous forme d'un volume convenable de la solution stock d'arséniate de soude et contenant 10 ml de SO_4H_2 1/5 p/v (**), sont additionnées de 10 ml de NO_3H RP pour toxicologie. On concentre alors jusqu'à dégagement de vapeurs nitreuses mais en évitant tout charbonnement. On laisse ensuite refroidir et place le ballon sous le combiné à distillation de l'appareil de Pien. On ajoute goutte à goutte par le réservoir latéral F (***) 5 ml de SO_4H_2 RP. pour toxicologie, puis chauffe avec précaution. On remplit le réservoir F de NO_3H et le maintient constamment plein pendant toute la durée de la minéralisation. Avant même que les vapeurs nitreuses aient cessé de se dégager, on admet quelques ml de NO_3H goutte à goutte. On augmente progressivement l'intensité de chauffage et maintient à une vive ébullition pendant toute la durée de l'attaque. On continue également sans arrêt les

(*) Cf. chapitre III, section I, p. 83 et suivantes.

(**) Cette quantité d'acide est mise dans les cristallisoirs de réception pour éviter une alcalinisation de l'urine par fermentation, alcalinisation génératrice de précipités salins toujours ennuyeux à introduire dans un ballon de minéralisation.

(***) Cf. fig. 7, p. 82.

ajouts de NO_3H de manière à maintenir constamment l'atmosphère du ballon saturée de vapeurs nitreuses. On obtient ainsi rapidement une décoloration totale du liquide. On arrête alors les ajouts de NO_3H et poursuit l'ébullition. Dès que la masse commence à brunir légèrement on introduit goutte à goutte sans interrompre l'ébullition une petite quantité du distillat contenu dans le réservoir O jusqu'à décoloration. On continue ainsi en ajoutant du distillat lors de chaque brunissement, jusqu'à ce que la matière ne se recolore plus et que d'abondantes fumées blanches de SO_3 envahissent l'atmosphère.

Toujours sans interrompre l'ébullition, on entr'ouvre alors le robinet de la chambre de récupération de manière à faire descendre goutte à goutte le distillat accumulé. Il faut opérer assez rapidement (1 à 2 minutes) pour que le nouveau distillat qui se forme ne dilue pas celui qui descend dans le ballon. Si au cours de cette attaque un brunissement apparaît, on introduit quelques gouttes de NO_3H dans le ballon tout en poursuivant l'incorporation de distillat au liquide en cours de minéralisation. A la fin, on s'assure que le second distillat est lui-même exempt de matières organiques en le traitant comme le premier et, s'il y a lieu, on le minéralise de la même façon. On opère ainsi jusqu'à ce que les distillats successifs ne contiennent plus de matières organiques (en général deux distillations suffisent pour les urines).

On laisse alors refroidir le résidu sulfurique dans le ballon puis le dilue en ajoutant avec précaution 20 ml d'eau distillée.

2° Isolement de l'arsenic à l'état d'arséniate ammoniaco-magnésien

Le résidu dilué est transvasé dans un bécher de 150 ml et le ballon lavé à deux reprises par quelques ml d'eau que l'on ajoute à la solution principale de manière à atteindre un volume total de 50 ml.

On ajoute alors 10 ml de solution de phosphate disodique à 5 p. 100 et 10 ml de solution de Cl_2Mg à 10 p. 100. On neutralise en agitant constamment à l'aide d'ammoniaque RP puis rajoute 20 ml de ce réactif. On abandonne alors 2 heures au moins dans l'eau glacée.

Au bout de ce temps, le liquide surnageant le précipité cristallin est décanté sur un filtre de Gooch et filtré en s'aidant du vide. Le précipité est lavé dans le bécher par de l'eau ammoniacale à 2-2,5 p. 100 jusqu'à ce que ces eaux de lavage ne contiennent plus de chlorures. Il est alors entraîné en totalité sur le filtre à l'aide de ce même réactif. L'aspiration sous vide est maintenue ensuite suffisamment de temps pour que le pré-

cipité soit bien sec. On le dissout, toujours sur le filtre, dans 6 ml exactement mesurés de ClH N et le filtrat est recueilli dans un tube à essai maintenu vertical sous la douille du creuset en remplissant partiellement la fiole de Kitasato de billes de verre assez grosses. On maintient le vide pendant un certain temps de manière à recueillir le maximum du filtrat. On introduit enfin 5 ml de celui-ci dans le générateur à hydrogène préalablement garni de zinc et de ses papiers et opère selon la méthode décrite précédemment (*).

B) DISCUSSION DES MODIFICATIONS

1° Minéralisation.

Nous avions constaté qu'en employant notre premier mode opératoire quelquefois les résidus de minéralisation restaient assez fortement colorés en jaune et qu'à partir de tels milieux imparfaitement minéralisés on obtenait, lors de la phase de co-précipitation, un précipité rouge brun mêlé au précipité blanc de phosphate ammoniaco-magnésien, ce qui, en définitive, amenait à introduire dans le générateur un produit inconnu susceptible de gêner le dégagement de l'arsine.

En opérant comme nous venons de le décrire, nous obtenons, avec les urines, un résidu incolore ou très faiblement coloré en jaune ne possédant pas un semblable inconvénient.

2° Isolement de l'arsenic.

Nous avons ajouté systématiquement à tous les résidus d'urines de lapin, des ions PO_4^{-3}, alors que nous ne procédions pas à cette addition pour les urines humaines. En effet, l'expérience nous a montré que le taux de phosphates de ce liquide biologique était extrêmement variable et que quelquefois même, si l'on ne prenait pas la précaution d'un ajout systématique, on n'obtenait pas la précipitation du phosphate ammoniaco-magnésien. Aussi avons-nous préféré faire un usage constant de la solution de phosphate.

Nous avons également préféré substituer une filtration sur filtre de Gooch à une filtration sur filtre en papier, pour la raison suivante : le précipité sur le papier était impossible à dessécher sinon à l'étuve, ce qui compliquait inutilement la méthode ; de ce fait, lors de la dissolution dans le ClH N, une partie de celui-ci aurait été consommée par l'ammoniaque retenue, ce qui aurait diminué le titre en acide du milieu dans des proportions impossibles à contrôler.

Enfin, l'emploi de 6 ml de ClH N au lieu de 5 ml se justifie si l'on tient compte des pertes possibles lors de la filtration par retenue sur le filtre ou dans sa douille. En prélevant ensuite 5 ml du filtrat pour les soumettre au dégagement, on est sûr de partir d'un volume exactement connu de solution arsénique ; il est évident que, de ce fait, les résultats trouvés devront être multipliés par 6/5.

(*) Cf. chapitre III, section III, p. 107.

C) RESULTATS

Pour chaque série d'essais préparés à partir du même échantillon d'urines, nous avons effectué un **essai à blanc** sur un volume d'urine identique à celui utilisé (200 ml) pour tenir compte dans nos résultats à la fois de l'arsenic apporté par les réactifs et de l'arsenic normal et pseudo-normal des urines. Nous donnons dans le tableau suivant en face de chaque série d'essais la valeur de ce chiffre.

Arsenic ajouté à l'urine (en mcg)	Arsenic des réactifs + arsenic normal de l'urine (en mcg)	Résultats nets (en mcg)	Rendements en % de la dose ajoutée
5 (2 essais)	1,8	4,6 4,4	92 88
50 (2 essais)	1,7	45 45	90 90
100 (3 essais)	1,8	91 94 91	91 94 91
100 (2 essais)	1,5	91 94	91 94

Nous n'avons pas poussé plus loin ces essais qui, on le voit, ont donné toute satisfaction. Nous avons retrouvé en moyenne **91 % ± 3 %** (*) de l'arsenic ajouté, soit un défaut de 6 % par rapport aux résultats obtenus en mettant directement l'arsenic dans le générateur. Cette perte est du même ordre que celle observée lorsque nous avons opéré avec une méthode type Cribier (7 %) ; elle semble due aux opérations de minéralisation et d'isolement préalable.

Néanmoins, les résultats sont considérablement **plus élevés** que ceux obtenus avec celle-ci (68 %) et moins dispersés (écart maximum 3 % au lieu de 5 %). Notre méthode permet donc, appliquée aux milieux biologiques, d'isoler plus de 90 % de l'arsenic réellement présent avec une erreur inférieure à 5 %, **précision qui n'est apportée par aucune des méthodes décrites.**

D'autre part, un semblable isolement préalable de l'arsenic permet l'élimination de l'antimoine si tant est que celui-ci puisse interférer (*). En effet, des essais effectués avec 50 mcg

(*) Erreur standard ± 0,64

(*) Nous avons vu qu'il n'en est rien, chacun de ces métalloïdes donnant sa propre vague par polarographie.

d'arsenic et 50 mcg d'antimoine nous ont permis de retrouver 88, 91, 90 et 88 % du premier et ont donné un résultat négatif pour le second.

Mais tel n'était pas notre but, au contraire nous avons voulu isoler, identifier et doser ensemble l'arsenic et l'antimoine contenus dans les milieux biologiques. Pour obtenir un tel résultat, nous avons été obligé de nous adresser à un procédé peu connu en France : l'isolement à l'état de xanthates.

ANNEXE

ETUDE DES DIAGRAMMES DE DIFFRACTION DES RAYONS X ET ANALYSE SPECTROGRAPHIQUE DES ZINC « PROLABO POUR TOXICOLOGIE » ET « MERCK POUR USAGE JUDICIAIRE »

Dans le but d'expliquer la différence de rendement en hydrogène arsénié constatée en utilisant chacun de ces zinc, nous avons pensé qu'une étude de leur structure cristalline et l'identification des traces d'impuretés métalliques contenues pourraient révéler des différences. C'est pourquoi les diagrammes de diffraction des rayons X et une analyse spectrographique de ces deux zinc ont été effectués (*).

A) ANALYSE CRISTALLINE PAR DIFFRACTION DES RAYONS X

1° Principes de l'analyse cristalline. Théorie de Bragg [2, 18, 23].

Les propriétés physiques d'un cristal sont fonction des arrangements réticulaires périodiques de ses atomes selon une disposition invariable. Lorsque la matière est homogène, une telle structure périodique est indéfiniment régulière dans les trois dimensions de l'espace, et cette structure « triplement périodique » constitue un réseau. Si elle est hétérogène, contenant des atomes étrangers ou des lacunes, la structure périodique du réseau sera interrompue.

Von Laue, Friedrich et Knipping découvrirent, en 1912, que les rayons X étaient diffractés par les cristaux à la façon d'un rayon lumineux par les traits d'un réseau gravé sur une surface de verre. Mais les très faibles longueurs d'onde des rayons X nécessitent pour leur diffraction, des traits à l'échelle atomique, traits que peut fournir le réseau cristallin.

W.H. Bragg et W.L. Bragg [2] démontrèrent que l'on pouvait considérer la diffraction des rayons X comme une réflexion par les divers plans d'atomes du cristal. Soit une série de plans parallèles dans l'édifice cristallin et un faisceau de rayons X monochromatiques frappant le cristal avec un angle d'incidence Θ. Certains de ces rayons seront réfléchis par le plan réticulaire supérieur. D'autres seront absorbés et une partie d'entre eux sera réfléchie par le deuxième plan, le reste allant frapper le troisième plan où une nouvelle fraction sera réfléchie et ainsi de suite. Toutes les ondes réfléchies par un même plan réticulaire seront en phase, mais ce n'est que si la diffé-

---

(*) Nous tenons à remercier ici M. Périnet, ingénieur au laboratoire des rayons X du C.R.S.I.M., qui a effectué les analyses par diffraction des rayons X, M. Michaud, directeur adjoint du C.R.S.I.M., grâce auquel ces analyses ont été possibles, et M. Lombard, chef de laboratoire de l'A.P.A.V.E., qui a effectué la recherche qualitative des impuretés des deux échantillons par analyse spectrographique. Qu'ils veuillent bien trouver ici l'expression de toute notre reconnaissance pour la contribution qu'ils ont apportée à la réalisation de cette thèse.

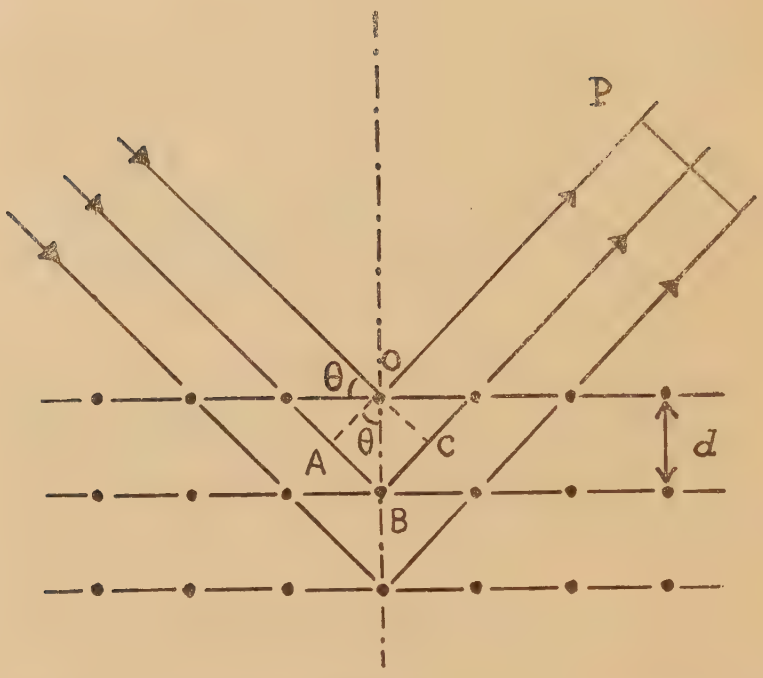

FIGURE 12

Schéma de la réflexion des rayons X sur un système de plans réticulaires.

rence de marche entre les ondes réfléchies par les plans successifs est égale à un nombre entier de longueurs d'ondes n que ces dernières seront en phase. En effet, la différence de marche entre deux rayons réfléchis sur les deux premiers plans réticulaires est au point P, δ = AB + BC ; or, les triangles AOB et COB sont égaux, donc AB = BC et la différence de marche vaut 2 AB ; mais AB = d sin Θ, donc δ = 2 d sin Θ. La « **condition de réflexion de Bragg** » est donc que :

$$n \lambda = 2d \sin \Theta$$

où d est la distance entre les deux plans réticulaires considérés. Cette équation permet de calculer l'intervalle minimum donnant lieu à des spectres de diffraction : comme sin Θ est toujours inférieur ou égal à 1, cette limite est donnée pour n = 1 par :

$$d_{min} = \frac{\lambda}{2}$$

Connaissant λ et mesurant Θ, on peut calculer d, et la position des figures de diffraction obtenues à partir d'un réseau cristallin donné permet de déterminer la structure du cristal, notamment de savoir si cette structure cristalline est homogène ou non et, dans ce dernier cas, d'évaluer la fréquence de l'élément perturbateur.

Sur ces bases ont été imaginées plusieurs méthodes d'analyse. Les méthodes de Debye-Scherrer et de Laue ont été utilisées ici. La première permet de rendre compte de la pureté du métal examiné; la seconde renseigne sur sa texture (lacunes et tensions internes).

2° Analyse des zinc par la méthode de Debye-Scherrer [18, 23].

On opère sur des échantillons de métal réduit à l'état pulvérulent. Les prélèvements ont été effectués sur les fragments de zinc à l'aide d'une lime très fine et les limailles introduites dans des tubes de collodion de 0,5 mm de diamètre. Ces tubes sont placés au centre d'une chambre cylindrique tapissée d'un papier sensible. Le rayonnement monochromatique utilisé est le rayonnement K_α du cuivre ($\lambda = 0{,}1537\ m_\mu$), filtré par une lame mince de nickel. Enfin, les tubes tournent autour de leur axe à la vitesse de un tour/minute pendant l'irradiation.

Dans le métal pulvérulent, l'arrangement des micro-cristaux est quelconque et les familles de plans réticulaires de chaque cristal (plans pour lesquels d est identique) ont une orientation tout à fait variable. Parmi les nombreuses orientations désordonnées possibles il y a en aura quelques-unes correspondant à l'angle exact de réflexion des rayons X, Θ; seuls les plans ainsi orientés diffractent donc les rayons X. Mais, en tournant autour de son axe, l'échantillon de poudre présentera succesivement au faisceau plusieurs familles de plans différentes satisfaisant les unes après les autres à la condition de Bragg.

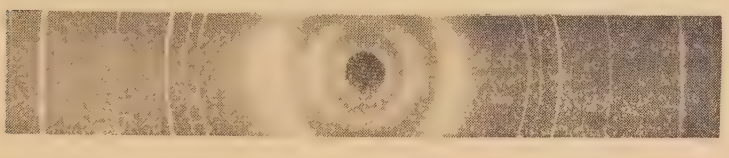

Planche I

Diagramme de Debye-Scherrer
Zinc Prolabo pour toxicologie et zinc Merck pour usage judiciaire

On obtiendra en définitive, sur le papier sensible, une série d'anneaux concentriques et fins représentant les sections par la surface cylindrique de la chambre des diverses nappes coniques de rayons diffractés par chaque famille de plans réticulaires. Le diamètre des anneaux ou l'écart entre deux anneaux homologues ne dépend que de d et en permet la détermination. Le rythme et la répartition des raies est fonction du système cristallin du réseau. Leur finesse et leur netteté dépendent de la régularité du réseau et leur densité du pouvoir réflecteur des plans réticulaires correspondants ; la répartition uniforme ou non de la densité sur les anneaux renseigne enfin sur l'homogénéité des cristaux, leurs dimensions et l'absence ou la présence de direction privilégiées dans l'orientation des cristallites.

La méthode permet donc, par comparaison avec des étalons, d'étudier la composition chimique des corps et leur état cristallin. En effet, le diagramme d'un mélange est constitué par la superposition des diagrammes de ses composants et, d'autre part, une substance amorphe ne fournit qu'un seul anneau large.

L'étude des deux échantillons de zinc a donné des résultats absolument identiques, chaque diagramme étant celui du zinc pur bien cristallisé.

3° Analyse des zinc par la méthode de Laüe [18].

Dans cette méthode, les pastilles et tiges de zinc sont irradiées telles quelles sans traitement préalable. Pour cela, elles sont placées également au centre d'une chambre cylindrique tapissée de papier sensible, mais restent immobiles ; l'irradiation est polychromatique. Le cristal étant fixe chaque groupe de plans réticulaires de l'échantil-

lon possède une orientation toujours la même par rapport au faisceau incident. L'angle (-) est donc fixe pour chaque système de plans et chacun de ces systèmes sélectionne dans le rayonnement polychromatique une longueur d'onde pour laquelle la relation de Bragg est satisfaite, et la diffracte dans une direction bien définie. On obtient ainsi une image présentant une tache centrale (trace du rayonnement direct non dévié ayant traversé le cristal) entourée de petites taches disposées sur des cercles concentriques. La disposition de ces dernières est fonction de l'orientation du plan de diffraction et de la longueur d'onde. Leur finesse, concentration et netteté renseignent sur le degré de perfection de réseau cristallin et, en particulier, sur les perturbations pouvant résulter de tensions internes.

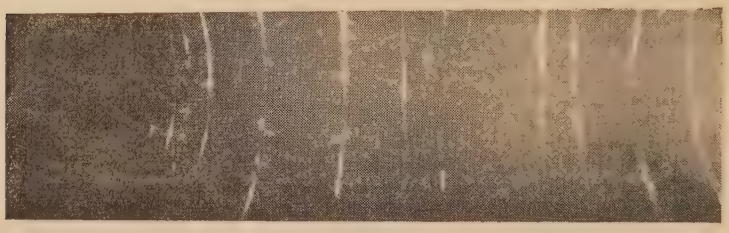

Planche II

Diagramme de Laüe
Zinc Prolabo pour toxicologie et zinc Merck pour usage judiciaire

Les diagrammes effectués ont été obtenus, chaque échantillon occultant la moitié du faisceau de rayons X. Ils sont pratiquement identiques pour les deux zinc et correspondent à un métal moyennement cristallisé et présentant des tensions internes.

En conclusion, les deux échantillons sont donc bien du zinc pur et leurs structures sont pratiquement identiques. L'examen par diffraction des rayons X ne pouvant les différencier, M. Lombard a bien voulu effectuer une analyse spectrographique, méthode permettant de déceler des impuretés, même à l'état de traces infinitésimales.

B) ANALYSE SPECTROGRAPHIQUE

1° Principes de la méthode [3, 21, 22].

L'atome, excité par apport d'une énergie extérieure (choc d'origine thermique avec d'autres atomes, choc d'un électron ou d'un noyau d'atome ionisé, etc.) est le siège de variations des niveaux d'énergie de certains de ses électrons; un ou plusieurs de ceux-ci peuvent passer à des niveaux d'énergie supérieure où ils sont instables. Mais ils reviennent spontanément sur leur orbite stable d'énergie minimum en libérant leur énergie excédentaire sous la forme d'un rayonnement. D'après la théorie quantitative, un électron, revenant ainsi d'une orbite d'énergie W_2 à son orbite stationnaire d'énergie $W_1 < W_2$ émet un rayonnement de fréquence ν suivant la relation $h\nu = W_2 - W_1$ ou h est la constante de Planck.

Chacun des différents éléments excités ainsi émettra donc en général un certain nombre de rayonnements de fréquences bien déterminées et dont l'ensemble est caractéristique de l'élément. L'ensemble de ces raies ou bandes constitue le spectre du corps étudié.

La production et l'étude directe de ces spectres constituent la spectroscopie ; si cette étude s'effectue après enregistrement sur une plaque photographique ou sous forme de diagramme, la méthode devient la spectrographie qui n'est donc qu'une branche de la spectroscopie.

Il existe deux moyens principaux pour produire les spectres : l'absorption et l'émission. En spectroscopie d'absorption, un rayonnement traversant un corps solide ou liquide voit son intensité diminuer pour certaines longueurs d'onde ; le corps est moins transparent pour certaines d'entre elles que pour d'autres, et l'on obtient ainsi des spectres de bandes ou de raies d'origine moléculaire, caractéristiques du corps responsable de leur production. Les spectres d'émission, au contraire, sont formés par les radiations lumineuses émises et non plus absorbées par les atomes ou molécules sous l'influence d'une excitation physique ; ils peuvent être formés de raies monochromatiques, de bandes, résultat de la juxtaposition d'un certain nombre de raies, ou être continus couvrant un grand domaine de longueurs d'onde. Le travail effectué ici a été une étude de spectres d'émission.

Les raies les plus sensibles des divers éléments, qui sont les dernières à disparaître lorsque la concentration du corps émetteur tend vers zéro, sont appelées « raies ultimes » [7]. Ce sont elles qui sont utilisées quoiqu'elles ne soient pas toujours les plus intenses, pour caractériser l'élément ; par ailleurs, en général, ces mêmes raies sont prédominantes dans le spectre d'absorption normal.

Un spectrographe devra comprendre schématiquement une source d'énergie thermique ou électrique fournissant à l'atome émetteur son potentiel d'excitation, un système dispersif séparant l'ensemble des radiations émises en leurs vibrations élémentaires, un appareil sensible susceptible d'être impressionné sélectivement par les diverses longueurs d'ondes réfractées ou diffractées.

Les sources utilisées peuvent être :

— des sources purement thermiques, flammes en général ;

— des tubes à décharge ;

— l'arc électrique ;

— l'étincelle électrique.

Les systèmes dispersifs sont des réseaux ou plus souvent des ensembles de prismes.

Enfin, outre l'œil humain (spectroscope), diverses émulsions photographiques sensibles à des plages variées de longueurs d'ondes, les cellules photo-électriques et compteurs de Geiger-Muller transformant l'énergie lumineuse en énergie électrique ou des radiomètres utilisant l'énergie calorifique du rayonnement, sont employés pour l'analyse des ondes dispersées par les dispositifs précédents.

Avec les appareils utilisant des plaques photographiques, l'identification des raies peut s'effectuer :

— soit en enregistrant sur la même plaque une échelle de longueurs d'ondes et un spectre étalon (celui du fer en général) ;

— soit en projetant sur un écran le cliché développé juxtaposé avec divers spectres de référence étalonnés à l'avance en longueurs d'ondes.

Ces divers dispositifs permettent également la détermination quantitative de fractions infimes de corps. Nous ne parlerons pas ici de ces procédés qui dépassent le cadre de notre sujet.

2° Pratique et résultats de l'analyse des zinc « Prolabo » et « Merck ».

Les conditions utilisées pour la recherche uniquement qualitative des impuretés ont été les suivantes :

— le domaine de longueurs d'onde exploré est situé dans l'ultra-violet entre 250 et 350 m_μ ;

— le système excitateur est un arc permanent obtenu à l'aide d'un courant alternatif de 220 volts, 16 ampères, entre une électrode négative en graphite pur et une électrode positive constituée par l'échantillon à analyser lui-même convenablement taillé ;

— les plaques photographiques sont des plaques spéciales sensibles au proche ultra-violet, « Otto Perutz, Munich » ; le temps de pose était de cinquante secondes ;

— le spectrographe enfin est un appareil Fuesco à quatre prismes. Il est composé d'un corps principal contenant le jeu de prismes qui peuvent pivoter autour de leur axe de manière à envoyer sur la plaque photographique fixée à la partie avant de la chambre seule la plage du spectre choisie pour les mesures. A partir du point de jaillissement de l'arc, le système optique se compose :

- d'abord d'une lentille biconvexe concentrant le faisceau sur un premier colimateur horizontal, ce qui permet d'éliminer les rayons marginaux résultant surtout de la combustion du carbone de l'électrode pour ne conserver que la partie centrale,
- puis d'un objectif muni d'un système d'obturation automatique permettant de régler exactement le temps de pose,
- enfin d'un deuxième colimateur à fente réglable destiné à réduire encore la largeur du faisceau à une valeur de l'ordre de 10 à 30 microns. C'est l'image de cette fente qui est reprise par le système de prismes et ainsi diffractée sur la plaque photographique où elle se produit en négatif sous forme de raies.

La plaque photographique impressionnée est développée et fixée. La position et l'opacité des raies sont comparées à l'aide d'un comparateur à projection à celles fournies par diverses planches d'un atlas portant les spectres étalonnés des éléments dont la présence est recherchée.

L'étude des spectres obtenus pour chacun des deux zinc (*) a permis de dresser le tableau comparatif suivant :

Eléments	Longueurs d'onde des raies en m_μ	Présence ou absence de la raie dans le spectre	
		Zinc "Prolabo"	Zinc "Merck"
Fer	302,060	présence	présence
	285,291	présence	**absence**
Plomb	283,304	présence	**absence**
Magnésium	279,380	présence	présence
Cuivre	327,396	présence	présence
	324,754	présence	présence
Arsenic	278,019	présence	présence

Le zinc « Prolabo » accuse donc une pureté moins grande que le « Merck » ; il contient plus de fer et renferme du plomb

(*) Les échantillons examinés faisaient partie des mêmes lots que nous avions utilisés pour nos expériences personnelles de distillation d'hydrogène arsénié.

alors que ce dernier élément est absent dans le zinc allemand. Soulignons, cependant, que les éléments rencontrés dans l'un et l'autre échantillons ne s'y trouvent qu'à l'état de traces infimes : les raies caractéristiques décelées sont des raies ultimes à peine visibles. On peut remarquer enfin la présence d'arsenic dans les deux zinc ; ceci n'a rien d'étonnant, cette impureté étant signalée par les deux fabricants et, par ailleurs, nous avons eu maintes fois l'occasion d'en estimer la teneur en effectuant un témoin des réactifs pour chaque série de dosages polarographiques que nous avons effectués.

Ces légères différences ne nous permettent évidemment pas de conclure que la présence ou l'absence de certaines impuretés aient une influence quelconque sur la génération de l'arsine. Cependant, il convient de souligner la coïncidence des deux faits :

— **le zinc « Prolabo », moins pur, fournit, dans les conditions où nous opérons, un rendement en arsenic inférieur au zinc « Merck »**. Or, on connaît l'influence catalytique positive ou négative que peuvent avoir des traces infinitésimales d'éléments sur une réaction chimique donnée. Des recherches plus poussées pourraient peut être donner la solution du problème. Nous avons seulement voulu ici prouver que les deux échantillons n'étaient pas rigoureusement identiques dans leur nature de même qu'ils ne l'étaient pas dans leur action.

BIBLIOGRAPHIE

[1]. — Adamovich V.I. et Rybnikova A.I. : Zavodskaya Lab. (U.R.S.S.), 1947, *13*, 487.
[2]. — Bragg W.H. et Bragg W.L. : The crystalline state, Bell ed., London, 1934, vol. 1.
[3]. — Bureau J. : Les méthodes actuelles de l'analyse spectroscopique - Act. Sci. Ind., Hermann et Cie éd., Paris, 1938, 645, VIII.
[4]. — Codex Medicamentarius Gallicus : Ordre national des Pharmaciens, éd., Paris, 1949, p. 773, et Premier supplément, 1954, p. 109.
[5]. — Cristau B. : Dosage toxicologique de l'arsenic par spectrophotométrie et par polarographie - Thèse Sciences (Université), Marseille, 1958, p. 70.
[6]. — Cristau B. : Bull. Soc. Chim., 1958, *19*, 717.
[7]. — De Grammont : C.R., 1920, *171*, 1106.
[8]. — Duranton J. : Les lois cinétiques de l'élimination des drogues appliquées à quatre médicaments arsenicaux - Thèse Pharmacie (Université), Strasbourg, 1949, p. 45.
[9]. — Fabre R. : Leçons de toxicologie - Act. Sci. Ind., Hermann et Cie éd., Paris, 1945, 292-976, IX.
[10]. — Geitner G. : Brennstoff Chem., 1959, *40*, 89.
[11]. — Griffon H. : J. Méd. Bordeaux, 1957, *5*, 659.
[12]. — Griffon H. et Buisson M. : Bull. Soc. Chim., 1934, *1*, 815.
[13]. — Heath P. : Analyst., 1954, *79*, 781.
[14]. — Jaulmes P. : Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1952, *90*, 281.
[15]. — Jaulmes P. et Turpin A. : Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 1948, *4*, 85.
[16]. — Kolthoff I.M. et Carr C.W. : Anal. Chem., 1948, *20*, 728.
[17]. — Konopik N. : Osterr. Chem. Zeit., 1954, *55*, 46.
[18]. — Lafay F. : Revue Electromagazine - La radiologie industrielle - III - L'analyse cristalline par diffraction des rayons X.
[19]. — Lespagnol A., Merville R. et Werquin : Bul. Soc. Chim. Biol., 1943, *25*, 322.
[20]. — Manceau P., Griffon H. et Nicolas R. : Ann. Fals. Fraudes, 1938, *354*, 262.

[21]. — Michel P. : La spectroscopie d'émission et ses applications - A. Colin éd., Paris, 1953.
[22]. — Monot G. : Eléments de spectrographie - Dunod éd., Paris, 1948.
[23]. — Moore W.J. : Chimie - Physique - Dunod éd., Paris, 1957, p. 463 et suivantes.
[24]. — Nazarenko V.A. et Byk G.I. : Ukrain. Khim. Zhur., 1956, *22*, 234.
[25]. — Official Methods of Analysis of the A. O. A. C. : W. Horwitz ed., Washington 8th edition, 1955, p. 396.
[26]. — Pharmacopoeia Internationalis : Masson et Cie édit., Paris, première édition, 1951, *1*, p. 311.
[27]. — Pien J. : Ann. Fals. Fraudes, 1954, *47*, 266, et 1955, *48*, 420.
[28]. — Pieruccini R. : Rend. Soc. Universal. Ital., 1948, *5*, 62.
[29]. — Rivemale Y. : Sur l'appareil de Marsh - Thèse pharmacien supérieur, Montpellier, 1939, p. 161.
[30]. — The British Pharmacopeia : The pharmaceutical press ed., London, 1958, p. 850.
[31]. — The Pharmacopoeia of the U.S.A. : Mack printing C° ed., Easton, 15th edition, 1955, p. 893.

CHAPITRE IV

APPLICATION DE LA METHODE MISE AU POINT POUR L'ARSENIC AU DOSAGE DE L'ANTIMOINE SEUL OU EN MELANGE AVEC LE PREMIER

Section I

TRAVAUX ANTERIEURS SUR L'IDENTIFICATION ET LE DOSAGE DE L'ANTIMOINE PAR TRANSFORMATION EN STIBINE

La recherche et le dosage toxicologiques de l'antimoine avaient perdu ces dernières années une grande partie de leur intérêt du fait de l'abandon progressif des médications antimoniées et de la rareté des empoisonnements accidentels ou criminels par les dérivés de l'antimoine. Cependant, dans les intoxications arsenicales aiguës, il arrive que de **l'émétique** soit administré comme vomitif au malade, ce qui entraîne la présence concomitante d'arsenic et d'antimoine dans les viscères ou les produits d'excrétion [13, 36]. D'autre part, un récent décret ministériel interdit l'addition de substances antimoniales dans les produits destinés à l'alimentation des animaux [23] ; en effet, le **sulfure d'antimoine** était auparavant utilisé fréquemment par les éleveurs de nos départements du Sud-Ouest pour la **production de foies gras** de volailles ; Fabre et Truhaut [14] ont montré les dangers de cette utilisation, l'antimoine s'accumulant dans le foie et les autres organes des animaux ainsi traités. Enfin, l'utilisation du **pentasulfure d'antimoine** comme agent de vulcanisation entraîne sa présence dans les bouchons de caoutchouc rouge fermant les flacons de sérums utilisés souvent maintenant de préférence aux ampoules pour les administrations massives; l'antimoine de ces bouchons peut passer en solution, notamment dans les solutés glucosés et la préparation finale contenir ce métalloïde [42].

C'est pourquoi nous pensons que la recherche et le dosage de faibles doses d'antimoine dans les produits destinés à l'alimentation de l'homme ou des animaux de basse-cour et dans les sérums thérapeutiques pourront être demandés plus souvent dans l'avenir aux pharmaciens et aux toxicologues.

Ces faits nous ont incité à rechercher s'il n'était pas possible, dans le cadre des recherches que nous avons effectuées sur la distillation de l'hydrure d'arsenic, de mettre au point une microméthode précise et sensible de dosage de l'antimoine. En effet, les seules méthodes semblant offrir à ce sujet toutes garanties sont des procédés colorimétriques utilisant la formation de complexes de l'antimoine avec la rhodamine B [18, 32, 45], le violet de méthyle [19, 29] ou les iodures [12, 15, 15 bis, 31].

La formation et la distillation d'hydrogène antimonié ont été peu employées jusqu'à présent pour la caractérisation et le dosage de cet élément : l'hydrure d'antimoine est beaucoup moins stable que son homologue arsenical, sa formation plus difficile et son identification souvent douteuse.

La méthode de Marsh semble être la plus utilisée [13, 36] pour la caractérisation du métalloïde et sa distinction avec l'arsenic [2, 10, 22, 30, 33, 48] ou l'étain [5]. Mais tous les auteurs s'accordent pour reconnaître qu'un dosage est impossible ainsi [4, 13, 24, 36] du fait de la faible stabilité de l'hydrure d'antimoine décomposé même en refroidissant le générateur en laissant dans celui-ci un dépôt métalloïdique.

Quant aux méthodes type Cribier ou Gutzeit, vu le peu de sensibilité du papier mercurique à l'hydrogène antimonié (*) et le manque de stabilité des taches même après fixation, se surajoutant à l'insolubilisation du métalloïde dans le générateur, elles n'ont pratiquement pas été exploitées. Cependant, Sanger et Riegel [47] ont mis au point une macrométhode de dosage dans laquelle le papier est révélé à l'ammoniaque. La tache serait alors suffisamment stable pour que l'on puisse opérer une comparaison avec des bandes étalon. Mais la limite de sensibilité est de 1 mg, ce qui, évidemment, enlève tout intérêt à la méthode.

Enfin, nous n'avons pas trouvé trace dans la littérature d'un essai quelconque utilisant la fixation de SbH_3 par un papier au NO_3Ag. Cependant, le barbotage du gaz dans une solution de ce sel est classiquement utilisée pour la séparation de l'antimoine et de l'arsenic [13, 33].

L'étude des conditions de formation de l'hydrure d'antimoine gazeux dans la monographie de P. Bothorel du Traité de Chimie Minérale de Pascal [40] nous a laissé penser qu'il serait peut-être possible d'effectuer un dosage de l'antimoine en appliquant à ses composés la méthode que nous avons établie pour l'arsenic.

En effet, si Wecks et Druce [55] obtiennent par action de l'acide sulfurique sur du zinc (conditions analogues à celles de la méthode de Cribier) un hydrure solide dont la formule serait Sb_2H_3, Thompson

(*) D'après Cribier [9], la sensibilité du papier au chlorure mercurique est 100 fois moins grande pour ce gaz que pour l'hydrogène arsénié. Nous avons pu d'ailleurs le constater : la tache obtenue est faiblement colorée et n'est pas homogène mais plutôt constituée d'une série d'empreintes dispersées sur une assez grande longueur de papier.

[53], Pfaff [41] et Stock [50] forment de l'hydrure d'antimoine gazeux, SbH_3, en faisant réagir l'acide chlorhydrique étendu sur du zinc en présence d'un composé d'antimoine (conditions se rapprochant de celles que nous employons pour l'arsenic).

D'autre part, il semble que par réduction électrolytique, la formation d'hydrure d'antimoine soit pratiquement quantitative [34, 37, 38]. Castagnou et Faure ont établi par un procédé de ce genre une micro-méthode de dosage de l'antimoine entre 20 et 100 mcg, seul ou en mélange avec l'arsenic [3, 17].

Le fait également que dans la méthode de Naquet [33] l'hydrogène antimonié soit retenu par une solution de NO_3Ag nous a encouragé à utiliser notre papier réactif comme fixateur de ce gaz. G.-P. Haight [21], nous l'avons vu, effectue une distillation pratiquement quantitative de SbH_3 grâce à l'action de l'acide sulfurique 6N sur du zinc ou « par toute autre méthode » permettant la formation de l'hydrure.

Enfin, un auteur russe [57] en 1954 effectua un dosage de l'antimoine en opérant la réduction en stibine par action de l'acide chlorhydrique 9N sur l'amalgame de zinc à température inférieure à +20° C. L'auteur transformait ensuite le gaz en iodure d'antimoine par contact avec de l'iode en poudre, dissolvait l'iodure formé dans une solution d'iodure de potassium et d'acide tartrique, décolorait la solution par l'acide ascorbique et complexait l'antimoine avec la thiourée pour obtenir un composé coloré évalué photométriquement.

Les conclusions de ces divers auteurs nous ont incité à appliquer aux composés antimoniés les conditions de distillation que nous observons pour l'hydrure d'arsenic et la fixation des gaz par le papier au nitrate d'argent. Mais un problème théorique se posait pour l'extraction et le dosage polarographique de l'antimoine dans un tel papier. En effet, il est admis classiquement [9, 11, 13, 28, 33, 36, 47] que, alors que l'hydrogène arsénié réagit avec le nitrate d'argent en solution diluée en formant de l'acide arsénieux passant en solution et de l'argent réduit :

$$AsH_3 + 6\ NO_3Ag + 6\ OH_2 \rightarrow AsO_3H_3 + 6\ NO_3H + 6\ Ag\ (*)$$

l'hydrogène antimonié réagit dans les mêmes conditions sans phénomènes d'oxydo-réduction avec formation d'antimoniure d'argent insoluble :

$$SbH_3 + 3\ NO_3Ag \rightarrow SbAg_3 + 3\ NO_3H$$

J.-J. Couillaud [7] s'est même basé sur cette réaction pour évaluer le rendement en antimoine de la méthode de Marsh appliquée à cet élément. Sur cette différence est basée aussi la technique classique d'isolement de l'arsenic et de l'antimoine en faisant barboter les hydrures dans une solution diluée de nitrate d'argent [13, 33] ; à la fin de la réaction tout l'arsenic à l'état de AsO_3H_3 soluble est théoriquement dans le liquide et tout l'antimoine sous forme de $SbAg_3$ insoluble est dans le précipité.

S'il en était ainsi tout dosage polarographique direct de l'antimoine retenu par le papier en opérant une extraction

(*) La même réaction se produit, on l'a vu, sur le papier au nitrate d'argent.

analogue à celle que nous effectuons pour l'arsenic, serait **impossible.** En effet, pour pouvoir être dosé polarographiquement, l'antimoine doit être au moins à la **valence + 3.** Or, nous avons obtenu directement, en opérant de façon identique à celle adoptée pour l'arsenic, la vague caractéristique de l'antimoine et avons retrouvé ainsi jusqu'à plus de 90 % de la quantité contenue dans la prise d'essai. Nous avons également retrouvé des valeurs importantes en Sb^{+3} dans le précipité brun formé par barbotage de l'hydrure dans une solution de nitrate d'argent. **Dans ce dernier il y a donc formation, tout au moins partielle, de l'ion positif selon une réaction analogue à celle ayant lieu avec l'hydrogène arsénié et, en utilisant un papier au nitrate d'argent sec, cette réaction est prédominante** (*).

Mais nous reviendrons sur cette question que nous avons essayé d'éclaircir à la fin du présent chapitre (**).

Ayant donc constaté qu'un dosage polarographique de l'antimoine retenu par un papier au nitrate d'argent était possible, nous avons tout d'abord voulu savoir par ce moyen quel pouvait être le rendement de la méthode de Cribier appliquée à l'antimoine, car, si tous les auteurs admettent que dans un tel générateur la formation d'hydrogène antimonié n'est pas quantitative [4, 13, 24, 36], aucun n'avance de chiffres à ce sujet.

(*) Rappelons que Haight [21], sans d'ailleurs se poser le problème, effectue le dosage polarographique de l'antimoine sur des liqueurs d'extraction de gel de silice au nitrate d'argent ayant été en contact avec l'hydrogène antimonié, et qu'il retrouve la presque totalité de l'antimoine mis en œuvre.

(**) Cf. p. 159 et suivantes.

SECTION II

TRAVAUX PERSONNELS

ETUDE DU DEGAGEMENT DE L'HYDROGENE ANTIMONIE DANS UN GENERATEUR DE CRIBIER

Le mode opératoire est identique à celui précédemment décrit pour l'arsenic (Cf. p. 72 et 85).

A) DISCUSSION DU PROCEDE UTILISE

Préparation des prises d'essai et de l'étalon employé pour le dosage polarographique. — Tous deux sont obtenus à partir de la même solution stock. Celle-ci est préparée par dissolution de 0,5984 g d'anhydride antimonieux préalablement desséché à l'étuve dans 500 ml de ClH 2N ; on obtient ainsi une solution à 1 mg/ml d'antimoine. Une telle concentration en ions H^+ est nécessaire pour éviter l'hydrolyse du sel antimonieux.

Les prises d'essai sont ensuite préparées au moment du besoin par dilution convenable de cette solution stock également dans du ClH 2N. Quant à l'étalon de concentration 10 à 20 mcg/ml, il est obtenu par dilution dans le réactif chlorhydrique-tartrique molaire de Haight comme pour l'arsenic (*).

Nos essais ont porté sur de l'antimoine à la valence + 3 et de l'antimoine à la valence + 5. Nous avons cru bon d'étudier ces deux ions car, si d'après certains auteurs [13] il ne se forme pas d'acide antimonique lors de l'utilisation des techniques de minéralisation par voie humide, il n'en reste pas moins vrai que l'oxydation permanganique de la technique de Cribier provoque l'apparition d'un composé à la valence maximum. C'est ce procédé classique que nous avons utilisé pour la peroxydation.

B) RESULTATS OBTENUS - DISCUSSION

Nous avons obtenu, ainsi que le laissait prévoir le travail de Haight, entre — 0,05 et — 0,4 volt, une seule vague correspondant à la réduction de Sb^{+3} en Sb^0 dont nous avons situé le potentiel de demi-palier à **— 0,19 volt.**

(*) A la différence des étalons analogues d'arsenic qui s'oxydent très rapidement, ceux d'antimoine se conservent plusieurs jours et fournissent toujours la même hauteur de vague dans les mêmes conditions.

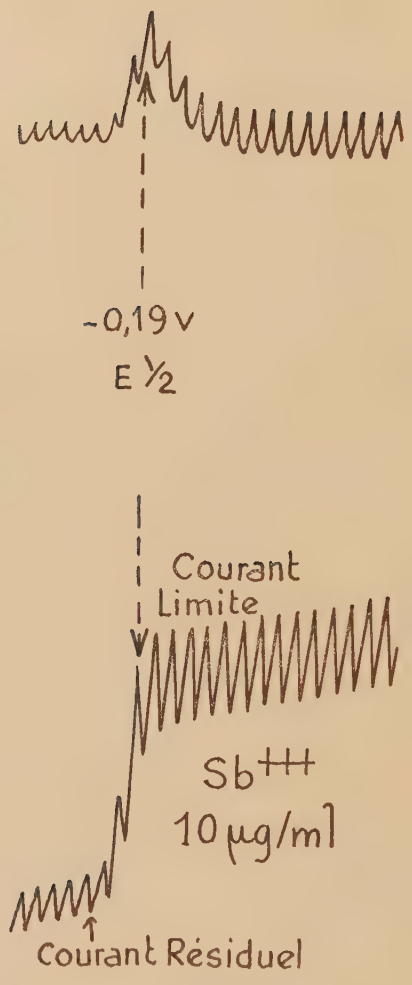

FIGURE 13

Enregistrement polarographique (courbe dérivée et courbe directe) de 10 mcg/ml d'antimoine à la valence + 3 dans le réactif ClH M — acide tartrique M. Sensibilité 5 microampères. Filtre 1.

Trois groupes d'essais ont été pratiqués :

— antimoine à la **valence + 5**, le générateur étant immergé dans **l'eau glacée** ;

— antimoine à la **valence + 3**, générateur également dans **l'eau glacée** ;

— antimoine à la **valence + 3**, le générateur étant laissé à la température ambiante oscillant autour de **+ 20° C.**

En voici les résultats :

Antimoine à la valence +5 (générateur dans l'eau glacée)

Antimoine mis dans le générateur (en mcg)	Antimoine retrouvé (en mcg)	Pourcentage d'antimoine retrouvé à la valence +3 dans le papier
50 (3 essais)	3,5 3 2,5	7 6 5
100 (3 essais)	22,5 18,5 19	22 19 19
200 (1 essai)	18,5	18

Antimoine à la valence +3 (générateur dans l'eau glacée)

Antimoine mis dans le générateur (en mcg)	Antimoine retrouvé (en mcg)	Pourcentage d'antimoine retrouvé à la valence +3 dans le papier
10 (4 essais)	1,5 1,8 1,8 2,2	15 18 18 22
20 (7 essais)	6,25 5,8 6,3 5,2 5,9 5,95 5,3	31 29 32 26 29 30 26
50 (4 essais)	22,5 22,5 20,5 20,5	45 45 41 41
100 (6 essais)	56 60 57,5 60 53 51	56 60 58 60 53 51
200 (8 essais)	132 130 133 129 137 145 143 134	66 65 66 65 68 73 72 67

Antimoine à la valence +3 (générateur à la température ambiante)

Antimoine mis dans le générateur (en mcg)	Antimoine retrouvé (en mcg)	Pourcentage d'antimoine retrouvé à la valence +3 dans le papier
10 (4 essais)	2,5 2,8 2,9 3,1	25 28 29 31
20 (2 essais)	9,8 9	49 45
50 (4 essais)	30 30,5 28,7 28,9	60 61 57 58
100 (5 essais)	70 71,5 72,5 73 72	70 72 72 73 72

a) L'examen de ces tableaux confirme que le **dégagement** d'hydrogène antimonié n'est jamais **quantitatif** dans la méthode de **Cribier.** Le pourcentage d'antimoine retrouvé, quelles que soient les conditions opératoires, est d'autant plus important que la dose introduite dans le générateur est plus grande.

D'ailleurs, nous avons pu constater la formation dans les flacons d'un **précipité gris** dont l'importance variait en raison inverse du rendement en hydrogène antimonié. Ce composé insoluble serait soit de l'antimoine métalloïdique formé par la décomposition de l'hydrogène antimonié gazeux instable, soit de l'hydrure solide d'antimoine Sb_2H_2 que certains auteurs disent obtenir dans des conditions analogues [55]. Quoi qu'il en soit, nous avons identifié la présence d'antimoine dans cet insoluble grâce à la réaction de Fauchon-Vignoli [15, 16].

Pour cela, le contenu du générateur est filtré à la fin du dégagement sur un filtre en verre fritté de Gooch en entraînant sur celui-ci les débris de zinc et la totalité du précipité. On lave sur le filtre l'ensemble à plusieurs reprises avec de l'eau bouillante (*). Puis on élimine à la pince les débris de zinc et dissout, toujours sur filtre, le précipité dans quelques ml d'acide nitrique pour toxicologie. Le filtrat est recueilli et évaporé à sec au bain de sable. On reprend le résidu par 1 ml de SO_4H_2 2N et chauffe légèrement pour faciliter la dissolution. On ajoute ensuite 2 ml de réactif de Fauchon et Vignoli (**) et porte le tout au bain-marie bouillant trente minutes. En présence d'antimoine, il se forme une coloration brunâtre qui s'intensifie en devenant gris-bleu, puis le précipité s'agglomère en grains noirs avec les doses élevées d'antimoine.

b) L'étude des résultats obtenus montre encore que la formation d'hydrogène antimonié est **beaucoup plus importante** à partir d'antimoine à la **valence + 3** qu'à partir de dérivés antimoniques et qu'enfin cette formation est légèrement **améliorée** en opérant à **température ordinaire** plutôt qu'à froid.

Ces résultats nous ont encouragé à essayer d'appliquer à l'antimoine notre méthode de dosage de l'arsenic. En effet :

— l'insolubilisation de l'antimoine dans le générateur semble beaucoup plus grande lorsqu'il s'agit de Sb^{+5} que pour Sb^{+3} ; or, nous opérons en réduisant le métalloïde à l'état trivalent par le chlorure stanneux ;

— l'élévation légère de température n'est pas défavorable, au contraire, lorsqu'on opère avec des dérivés antimonieux ; or, nous opérons à + 40° C.

(*) Pour éviter une oxydation de l'antimoine et sa dissolution partielle dans l'eau de lavage.

(**) Hypophosphite de sodium ..... 100 g
Eau distillée ..... 200 ml
SO_4H_2 d : 1,83 ..... 150 ml

SECTION III

TRAVAUX PERSONNELS

DOSAGE POLAROGRAPHIQUE DE L'ANTIMOINE SEUL OU EN MELANGE AVEC L'ARSENIC APRES TRANSFORMATION EN HYDRURES

A) DOSAGE DE L'ANTIMOINE SEUL

1° Résultats.

Le procédé employé est celui décrit pour l'arsenic à la valence + 5 sans aucune modification (*). Nous nous sommes contenté d'essayer l'antimoine sous sa valence + 3, car, de toute façon, le métalloïde est réduit ainsi par le chlorure stanneux dans le générateur et, d'autre part, pour l'arsenic, nous avions obtenu des résultats moyens rigoureusement identiques quel que soit son degré d'électropositivité. Nous avons pensé qu'il devait en être de même pour l'antimoine.

La solution stock que nous avons employée ici avait une concentration de 250 mcg/ml en antimoine. Nous l'avons préparée en dissolvant 0,1496 g d'anhydride antimonieux dans 500 ml de ClH 2N. Le volume de la prise d'essai, comme pour l'arsenic, était de 5 ml mais avait une normalité 2N en acide chlorhydrique au lieu de N. De ce fait, son admission dans le générateur introduisait 1 ml d'acide chlorhydrique fumant au lieu de 0,5 ml ; c'est pourquoi, lors des additions successives d'acide chlorhydrique stanneux le premier ajout n'a été que de 1 ml au lieu de 1,5, ce qui ramène le volume total de réactif de 15,5 ml à 15 ml.

Voici les résultats que nous avons obtenus, déduction faite de **0,65 mcg** d'antimoine apporté par les réactifs :

Antimoine mis dans le générateur (en mcg)	Antimoine retrouvé (en mcg)	Rendements en % de la dose testée
5 (4 essais) **	3,3 3,05 3,3 3,05	66 61 66 61
10 (6 essais)	8,15 7,6 7,7 8,2 7,7 8,3	81 76 77 82 77 83
20 (5 essais)	18,2 18,4 17,9 17 17,2	91 92 90 85 86
50 (4 essais)	44,4 43,9 43,4 44,4	89 88 87 89
100 (4 essais)	91,2 90 86,8 91,2	91 90 87 91

(*) Cf. chapitre III, section III, p. 104 et suivantes.

(**) Polarogrammes effectués avec un filtre 2.

2° **Discussion des résultats.**

La méthode donc, appliquée à l'antimoine, est nettement **moins sensible et précise** que pour l'arsenic. En effet, au-dessous de 20 mcg les rendements baissent rapidement. Au-dessus, un déficit variant entre 8 et 15 % est enregistré. Ce déficit peut évidemment s'expliquer par une insolubilisation de l'antimoine dans le générateur, mais nous n'avons jamais constaté l'apparition de précipité noir comme dans la méthode de Cribier (*). En tout cas, il est du même ordre de grandeur (environ 10 %) que ceux constatés par Castagnou et Faure avec l'hydrogénation électrolytique [3, 17] et Haight avec la génération d'hydrogène par action de SO_4H_2 6N sur du zinc [21].

Quant aux baisses de rendement constatées au-dessous de 20 mcg, elles peuvent trouver leur explication, outre dans une insolubilisation de l'antimoine dans le générateur, dans une mesure moins précise de la hauteur de vague. En effet, à concentration égale dans la cellule de polarographie, la vague de l'antimoine est presque moitié moins haute que la première vague de l'arsenic qui sert au dosage. Cette différence peut s'expliquer en comparant les masses atomiques des deux ions (75 pour l'arsenic et 122 pour l'antimoine) ; à concentrations en poids égales la concentration ionique de l'arsenic dans l'électrolyte support sera donc 122/75 fois plus grande que celle de l'antimoine et les hauteurs de vagues respectives seront dans le même rapport. Par ailleurs, le courant mesuré étant également fonction de la constante de diffusion de l'ion et celle-ci dépendant de la taille et donc de la masse atomique de la particule élémentaire, cette dernière grandeur influera également sur la hauteur de vague, toutes choses étant égales par ailleurs. Du fait de cette différence importante entre les deux hauteurs de vagues, celle de l'antimoine est absorbée dans la montée générale de la courbe pour des concentrations en poids plus grandes que celles de l'arsenic et la précision de la mesure sera moins bonne pour les faibles doses. C'est pourquoi nous avons effectué les mesures sur 5 mcg d'antimoine avec un filtre 2 alors que les dosages d'une telle dose d'arsenic étaient parfaitement possibles en employant le filtre 1.

Quoi qu'il en soit, nous pensons que, entre 20 et 100 mcg, la méthode appliquée à l'antimoine est parfaitement valable et aussi précise que celles de Castagnou et Faure ou de Haight. En effet, entre ces limites, nous avons obtenu un rendement moyen de 89 % avec un écart maximum de $\pm$ 4 % (**), valeurs qui sont parfaitement compatibles avec les besoins de l'expertise toxicologique. On pourrait, en appliquant un coefficient d'analyse de 100/89, soit 1,12, évaluer avec une bonne approximation la quantité d'antimoine présente dans le milieu soumis à l'expertise.

(*) L'emploi de la réaction de Fauchon-Vignoli ne nous a pas donné non plus de résultat mais le réactif n'est pas assez sensible pour détecter des quantités d'antimoine de l'ordre de quelques mcg comme c'est le cas ici.

(**) Erreur standard : $\pm$ 1,23.

B) DOSAGE DE L'ARSENIC ET DE L'ANTIMOINE EN MELANGE

Les vagues de l'arsenic et de l'antimoine dans le milieu chlorhydrique-tartrique molaire n'interférant pas et Haight ayant effectué le dosage polarographique de ces deux éléments en mélange, nous avons pensé que notre méthode était parfaitement apte à les caractériser et à les doser ensemble.

Nous avons effectué ces dosages en utilisant des prises d'essai préparées à partir des solutions-stock d'arséniate de soude et d'anhydride antimonieux décrites précédemment.

Les polarogrammes obtenus ont été parfaitement conformes à ce que nous pouvions prévoir et les **potentiels de demi-palier à leur place normale :** — 0,19 volt pour l'antimoine, — 0,43 et — 0,67 volt pour les vagues de l'arsenic. Notons cependant que les hauteurs de vagues sont légèrement diminuées par rapport à ce qu'elles sont si les ions sont dosés séparément. Mais comme nous opérons toujours comparativement à un témoin de concentration telle que les hauteurs de vagues soient du même ordre que celles de l'essai, ce fait est sans importance.

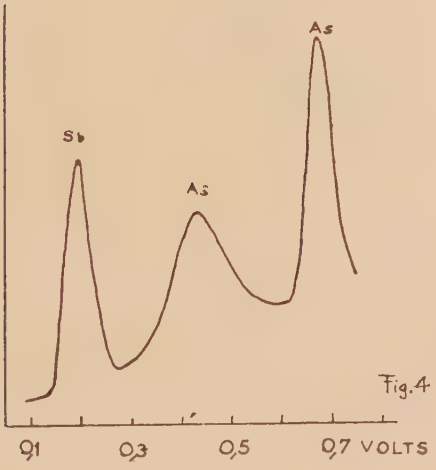

FIGURE 14

Enveloppe extérieure d'un enregistrement en polarographie dérivée de 20 mcg/ml d'antimoine et de 10 mcg/ml d'arsenic à la valence + 3.

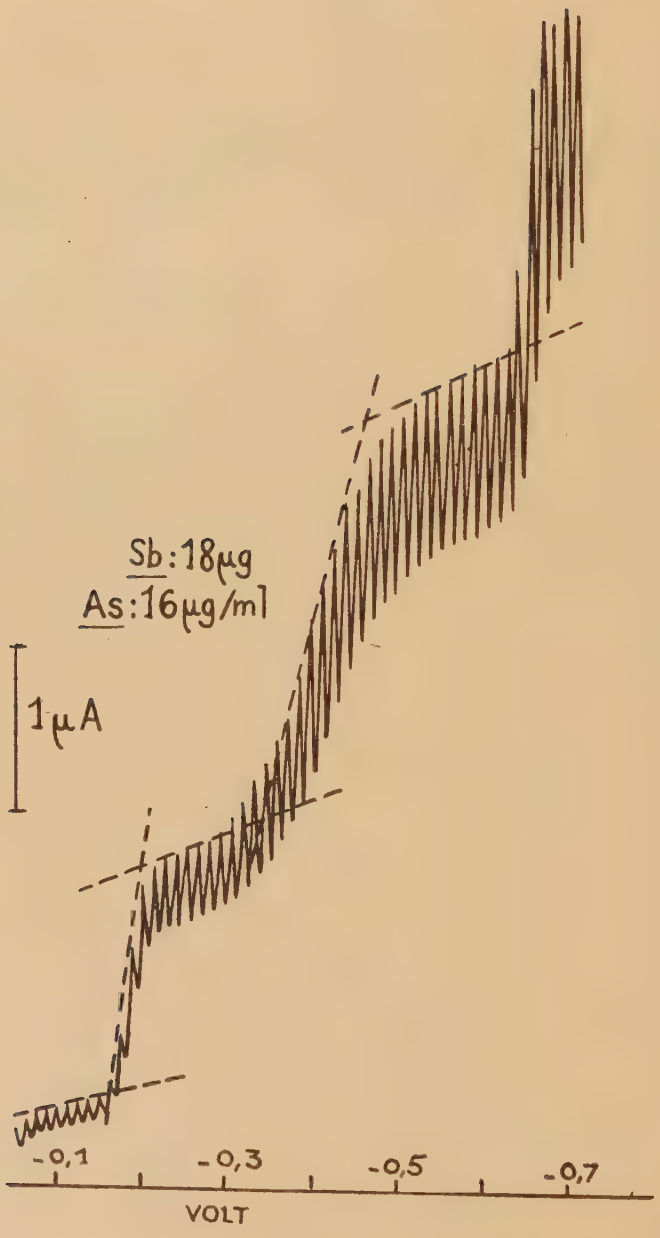

FIGURE 15

Enregistrement polarographique direct de 18 mcg/ml d'antimoine et de 16 mcg/ml d'arsenic à la valence + 3. Sensibilité 10 microampères. Filtre 1.

Selon les concentrations relatives d'arsenic et d'antimoine, nous avons quelquefois été obligé d'effectuer deux polarogrammes pour un même essai (*). En effet, lorsque les quantités de chaque ion sont du même ordre on peut se contenter d'effectuer la lecture sur un seul enregistrement tracé avec le filtre adéquat et en utilisant une sensibilité convenable. Mais lorsque l'écart entre les deux concentrations est grand, on est obligé d'employer une sensibilité différente pour chaque ion et pour les hautes sensibilités, d'utiliser le filtre 2. On trace donc pour chaque élément un polarogramme en utilisant la sensibilité et le filtre convenables. Cette façon de procéder permet un gain certain de précision et de sensibilité.

Voici quelques résultats obtenus en opérant de cette manière (il est tenu compte de **0,40 mcg d'arsenic et de 0,65 mcg d'antimoine** apportés par les réactifs) :

(*) Et évidemment deux polarogrammes pour l'étalon.

Quantités testées et conditions opératoires	Arsenic retrouvé		Antimoine retrouvé	
	Valeur absolue en mcg	Rendement en % de la dose testée	Valeur absolue en mcg	Rendement en % de la dose testée
Prise d'essai { 20 mcg As / 20 mcg Sb	19,85	99	17,6	88
Volume du réactif d'extraction : 2 ml	19,05	95	17,1	85
Un seul enregistrement : sensibilité 10 µA	19,35	97	17,6	88
filtre 1 (4 essais)	19,6	98	17,1	86
Prise d'essai { 50 mcg As / 20 mcg Sb	49,9	100	17	85
Volume du réactif d'extraction : 2 ml ..... Un seul enregistrement : sensibilité 10 µA	49,6	99	17,35	87
filtre 1 (2 essais)				
Prise d'essai { 10 mcg As / 50 mcg Sb	9,8	98	42,4	85
Volume du réactif d'extraction : 2 ml ..... Deux enregistrements : pour As :	9,95	99	42,4	85
sensibilité 5 µA, filtre 2 pour Sb :				
sensibilité 10 µA, filtre 1 (3 essais)	9,6	96	42,4	85
Prise d'essai { 100 mcg As / 20 mcg Sb	98,1	98	18,45	92
Volume du réactif d'extraction : 2 ml	95,2	95	17,1	85
Deux enregistrements : pour As :				
sensibilité 50 µA, filtre 1 pour Sb :	95,4	95	18	90
sensibilité 10 µA, filtre 1 (4 essais)	96,7	97	17,75	89
Prise d'essai { 100 mcg Sb / 5 mcg As				
Volume du réactif d'extraction : 2 ml	4,85	97	91,9	92
Deux enregistrements : pour As :				
sensibilité 5 µA, filtre 2 pour Sb :				
sensibilité 20 µA, filtre 1 (2 essais)	5	100	85,6	86

Nous retrouvons pour l'**arsenic** exactement le même résultat moyen que celui obtenu lorsqu'il est dosé seul, soit **97 %** ± **3 %** (*). Pour ce métalloïde, la méthode est d'une remarquable reproductibilité. Quant à l'**antimoine**, les résultats retrouvés ici sont légèrement inférieurs et un peu plus dispersés que lorsqu'il est seul [**87 %** ± **5 %** (**) au lieu de **89 %** ± **4 %**]. Ce résultat par défaut est peut-être dû à la proximité de la première vague de l'arsenic qui interférerait tout de même avec la vague de l'antimoine en la diminuant. De toute façon, de tels résultats sont encore valables pour les besoins de la toxicologie et notre méthode permet à coup sûr d'identifier l'arsenic et l'antimoine contenus dans un même milieu, de doser l'arsenic avec une bonne précision et, enfin, d'évaluer l'antimoine avec une approximation de moins de 5 %.

(*) Erreur standard : ± 0,47.
(**) Erreur standard : ± 0,68.

Section IV

TRAVAUX PERSONNELS

APPLICATION A LA TOXICOLOGIE CARACTERISATION ET DOSAGE DE L'ARSENIC ET DE L'ANTIMOINE CONTENUS DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES SANS ISOLEMENT L'UN DE L'AUTRE

A) RECHERCHES PRELIMINAIRES

Nos travaux précédents avaient montré qu'il était parfaitement possible d'identifier et de doser ensemble ces deux métalloïdes grâce à la méthode polarographique après les avoir transformés transitoirement en hydrures volatils. Pour donner une application pratique à cette méthode, il était nécessaire de rechercher un procédé permettant d'amener dans le flacon générateur, **en totalité, ensemble et débarrassés au maximum de substances étrangères**, l'arsenic et l'antimoine présents dans les milieux biologiques.

L'isolement à l'état de composé **ammoniaco - magnésien** après minéralisation était impossible, seul l'arsenic étant susceptible de former ce composé. On pouvait penser à priori que le dérivé de l'antimoine contenu dans le minéralisat, qu'il soit antimonique ou antimonieux [11, 13], serait hydrolysé par l'excès d'ammoniaque ajouté et que l'antimoine précipiterait sous forme d'hydrate en même temps que l'arséniate ammoniaco-magnésien. Les expériences que nous avons réalisées furent négatives : l'antimoine ne précipite pas en même temps que le phosphate ammoniaco-magnésien.

L'isolement des deux ions à l'état de **sulfures** n'a pas donné de meilleurs résultats. En effet, si des procédés de ce genre sont suffisants pour insolubiliser l'arsenic et l'antimoine en vue d'une recherche simplement qualitative ou une estimation quantitative de grandes quantités, ils se sont révélés inapplicables à un isolement en vue du dosage de traces.

Tout d'abord, les conditions de pH nécessaires à la précipitation quantitative de chaque sulfure sont incompatibles, le sulfure d'arsenic, en effet, doit être formé en milieu fortement acide et celui d'antimoine à pH beaucoup plus élevé sans attein-

dre cependant la neutralité, car, à l'inverse du premier, il est soluble dans les milieux acides forts.

Nous avons néanmoins effectué une série d'essais en opérant de la façon suivante :

Le résidu sulfurique de la minéralisation est étendu de 20 ml d'eau distillée et entraîné dans un pot à centrifugation de 100 ml de capacité. Le ballon ayant servi à la minéralisation est rincé plusieurs fois à l'eau distillée de manière à ce que ces eaux de lavage réunies à la liqueur initiale totalisent un volume de 50 ml. Le pot à centrifugation est alors porté au B.M. à +70° C environ et l'on fait barboter bulle à bulle un courant d'hydrogène sulfuré dans la solution maintenue chaude pendant trente minutes. On refroidit immédiatement, ajoute 2 ml de suspension de sulfate de baryum à 30 p. 100 environ v/v et abandonne deux ou trois heures. On centrifuge ensuite, rejette le liquide surnageant et minéralise le précipité par voie sulfonitrique. A la fin de la minéralisation on chauffe doucement au bain de sable de manière à chasser complètement l'acide sulfurique et obtenir un résidu sec. Après refroidissement, celui-ci est dissous dans les pots par 6 ml de ClH 2N, on ajoute quelques cristaux d'urée et porte à l'ébullition cinq minutes pour éliminer le sulfate acide de nitrosyle formé. On laisse à nouveau refroidir et introduit dans le générateur 5 ml de la solution. On procède ensuite comme indiqué précédemment.

Nos quatre essais ont porté sur 50 mcg d'arsenic sous forme d'arseniate de soude et sur 50 mcg d'antimoine sous forme de chlorure antimonieux ajoutés à 200 ml d'urines de lapin. Nous n'avons retrouvé, par dosage polarographique, que 38.5, 40,5, 40 et 38,5 mcg d'arsenic, soit environ 80 pour 100 de la quantité initiale et pratiquement pas d'antimoine.

Ces mauvais résultats ne nous ont pas étonné car, outre la forte acidité du milieu défavorable à la précipitation du sulfure d'antimoine, la présence du sulfate de baryum n'était pas suffisante pour assurer une adsorption convenable de la totalité des sulfures colloïdaux formés : après centrifugation même prolongée et menée à grande vitesse la liqueur surnageante restait opalescente (*). D'autre part, lors du barbotage de l'acide sulfhydrique, de grandes quantités de soufre se forment et cette présence rend l'attaque sulfonitrique ultérieure très longue et pénible, nécessitant l'emploi de grandes quantités d'acide nitrique ; cette longue attaque étant effectuée directement dans les pots à centrifugation, sans possibilité de récupération de l'arsenic volatilisé par entraînement vésiculaire et se produisant sur un milieu complexe où les métalloïdes (et en particulier l'arsenic) se trouvent à l'état trivalent, il est fort probable que des pertes se produisent à ce stade. Un tel procédé ne permettait donc pas d'isoler ensemble l'arsenic et l'antimoine ; nous avons abandonné toute autre investigation dans ce sens.

(*) Opalescence due à la fois au soufre et aux sulfures restés colloïdaux.

B) METHODE DE KLEIN ET VORHES DOSAGE COLORIMETRIQUE DE L'ARSENIC APRES ISOLEMENT A L'ETAT DE XANTHATE

Rcherchant dans la littérature un procédé permettant l'isolement concomitant des deux métalloïdes, notre attention fut attirée par un paragraphe de l'ouvrage de Snell et Snell : « *Colorimetric methods of analysis* », traitant de l'extraction de l'arsenic des milieux biologiques [49]. Ces auteurs signalaient brièvement que le **xanthate arsénieux est extractible** de ses solutions aqueuses acides par le **tétrachlorure de carbone.** Ils déploraient que, malheureusement, **l'antimoine** et d'autres métaux soient **extraits en même temps**, ce qui nécessitait une élimination de ces dérivés susceptibles d'interférer lors d'un dosage colorimétrique terminal de l'arsenic. Cet inconvénient a paru être, au contraire, un avantage pour nous puisque nous recherchions un isolement simultané des deux métalloïdes.

Avant de nous reporter à la publication originale de Klein et Vorhes, responsables de ce travail, nous avons voulu savoir si des procédés de cet ordre, pratiquement inconnus en France, étaient souvent pratiqués à l'étranger. En effet, divers auteurs, depuis quinze ans, se sont intéressés à de telles méthodes. Citons :

— Crawford et Storey [8] qui séparent quantitativement dans les urines et le sang l'arsenic à la valence +3 de l'arsenic pentavalent, en utilisant la formation de xanthate arsénieux extractible par le CCl_4 alors que l'ion arséniate reste dans la phase aqueuse ;

— Romano [46] qui effectue une détermination gravimétrique de l'arsenic contenu dans les minéralisats de produits organiques après réduction à la valence +3 et précipitation à l'état de xanthate ;

— Tarugi et Sorbini [52] qui utilisent la formation du xanthate arsénieux et son extraction par le chloroforme en vue d'un test d'identification de l'arsenic et d'une macrométhode de dosage ;

— Strafford et Wyatt [51] qui extraient l'arsenic et le cuivre des minéralisats organiques sous forme de dérivés xanthiques en solution également dans le chloroforme ;

— Wenger et Duckert [56] qui précipitent et identifient, entre autres métaux, l'arsenic et l'antimoine toujours sous forme de xanthates.

La formation de dérivés de l'antimoine autres que les xanthates mais extractibles des solutions aqueuses par les solvants organiques est également utilisée pour isoler ce métalloïde seul ou avec l'arsenic. C'est ainsi que l'acétate d'éthyle extrait l'antimoine pentavalent des milieux aqueux chlorhydriques [26], la méthylisobutylcétone enlève en totalité l'arsenic et l'antimoine à la valence +3 des milieux chlorhydriques 8N [20].

Klein et Vorhes [27], frappés par le manque de précision

de la méthode de Gutzeit, voulurent mettre au point un procédé colorimétrique de dosage de l'arsenic contenu dans les poussières souillant les fruits frais. Le dosage colorimétrique utilisait la méthode de Deniges améliorée par Zinzadze [58], procédé permettant la formation de l'arsenio-conjugué céruléomolybdique de coloration bleue. Mais pour obtenir de bons résultats, il est nécessaire que seul l'arsenic soit amené à se complexer avec le dérivé du molybdène assurant la formation du conjugué ; le milieu réactionnel doit donc être à ce stade débarrassé de tous les éléments susceptibles d'interférer ainsi.

Pour obtenir ce résultat, Klein et Vorhes ont adopté la méthode de Tarugi et Sorbini [52] que nous venons de citer, en la modifiant pour la rendre applicable à des quantités d'arsenic comprises entre 100 et 800 mcg. Leur procédé est donc une semi-microméthode.

Ces auteurs effectuent l'isolement de l'arsenic des milieux de minéralisation sulfonitrique en cinq étapes :

1° **Réduction à la valence +3** de l'arsenic pentavalent contenu dans le minéralisat. Pour cela, le résidu sulfonitrique (contenant 20 ml de cet acide) est dilué et traité par l'iodure de potassium. L'iode apparu est ensuite éliminé par la quantité juste stoechiométriquement nécessaire d'hyposulfite de sodium. Un excès de ce réactif aurait pour effet de provoquer l'apparition de soufre colloïdal, soluble en partie dans le réactif organique d'extraction. Ce soufre serait ensuite transformé en acide sulfurique lors de l'oxydation précédant le dosage colorimétrique, entraînant une acidité génératrice de résultats erronés par défaut.

2° **Formation et extraction** simultanées du xanthate arsénieux. Les auteurs utilisent pour cela un épuisement de la solution aqueuse par une solution d'éthylxanthate de sodium dans l'éthanol et le tétrachlorure de carbone. Mais avant la formation du dérivé arsénieux, d'autres xanthates métalliques peuvent se former préférentiellement. D'après Klein et Vorhes, les réactions se feraient en trois étapes :

— d'abord formation en milieu acide d'acide xanthique à partir de l'éthylxanthate de sodium; l'acide formé se décompose rapidement;

— ensuite formation de xanthate de métaux tels que l'antimoine, l'étain, le cuivre ;

— enfin formation de xanthate d'arsenic à partir de l'excès d'acide xanthique non saturé par les métaux précédents.

C'est pourquoi il faut procéder immédiatement après l'introduction du réactif d'extraction à une mise en contact étroite des phases pour éviter la destruction de l'acide xanthique avant qu'il réagisse, et opérer avec une quantité d'éthylxanthate de sodium largement en excès par rapport à celle nécessaire pour extraire l'arsenic seul.

3° **Séparation des métaux parasites** entraînés susceptibles d'interférer lors du dosage colorimétrique. Ces métaux sont éliminés par lavage des liqueurs d'extraction par de l'acide chlorhydrique concentré contenant du chlorure stanneux. En effet, à l'inverse du xanthate d'arsenic, les dérivés homologues de l'étain et de l'antimoine sont solubles dans l'acide chlorhydrique concentré où ils sont transformés en chlorures ; l'interférence de ces deux métaux est due à la formation de composés oxygénés insolubles lors de l'oxygénation terminale, ce qui provoque un trouble important générateur d'erreurs dans l'évaluation photométrique de la coloration due à l'arsenic. Quant au cuivre,

il est tout au moins partiellement transformé en iodure cuivreux lors de la réduction iodhydrique, iodure cuivreux qui est entraîné en suspension dans le tétrachlorure de carbone ; il a alors tendance à se décomposer et à libérer de l'iode qui oxyde le xanthate d'arsenic, le rendant insoluble dans le tétrachlorure ; c'est pour prévenir cette libération d'iode génératrice de pertes que le chlorure stanneux est rajouté à l'acide chlorhydrique.

4° **Elimination du tetrachlorure de carbone** par volatilisation.

5° **Destruction du xanthate et oxydation de l'arsenic** à la valence +5 par l'eau de brome. Les auteurs terminent ensuite par un dosage colorimétrique comparativement à des étalons traités de manière identique aux essais ; nous ne parlerons pas de cette partie de la méthode qui est sans intérêt pour notre sujet.

C) PROCEDE PERSONNEL

ISOLEMENT, CARACTERISATION ET DOSAGE DE L'ARSENIC ET DE L'ANTIMOINE SANS SEPARATION L'UN DE L'AUTRE

La remarque de Klein et Vorhes sur le mécanisme de la formation du xanthate d'arsenic en présence de métaux étrangers (*) nous a fait penser qu'en utilisant **suffisamment de réactif** il était certainement possible **d'extraire ensemble** et quantitativement **l'antimoine et l'arsenic.** Restait à savoir si un tel procédé était applicable à des quantités d'arsenic et d'antimoine inférieures à 100 mcg. Pour le premier, rien à priori ne s'opposait à une telle extension de la méthode; d'ailleurs, les auteurs qui ont testé leur procédé entre 100 et 800 mcg pensent qu'il peut s'appliquer au dosage de quantités inférieures, sans modification du mode d'extraction, mais simplement en réduisant le volume final à la moitié ou même au quart du volume proposé et en faisant de même pour le réactif molybdeux-molybdique de Zinzadze. Pour l'antimoine, c'était l'inconnu, et seule l'expérience nous a montré que le procédé restait quantitatif dans toute la gamme des quantités que nous permettait de doser la distillation de l'hydrure suivie de la méthode polarographique.

La méthode que nous avons mise au point à partir du procédé d'isolement de Klein et Vorhes comporte quatre stades suivis par la distillation des hydrures :

— réduction à la valence +3 de l'arsenic et de l'antimoine contenus dans le minéralisat ;

— formation et extraction simultanée dans le CCl_4 des xanthates d'arsenic et d'antimoine ;

— élimination du trétrachlorure de carbone par volatilisation ;

(*) Cf. p. 145.

— minéralisation des xanthates par la méthode sulfo-nitro-perchlorique de Kahane et reprise du résidu par le milieu chlorhydrique 2N, point de départ de la formation et de la distillation des hydrures volatils.

1° **Réactifs utilisés.**

— urée pure pour analyses R.P. ;

— acide sulfurique pour toxicologie R.P., d : 1,83 ;

— solution d'iodure de potassium pour analyses R. P. à 10 p. 100 p/v ;

— solution d'hyposulfite de sodium pour analyses R. P. approximativement 0,1 N ;

— tétrachlorure de carbone pour analyses R.P. ;

— solution alcoolique de xanthate de sodium.

Ce réactif est préparé par dissolution de 5 g de soude en pastilles dans 50 ml d'alcool absolu. Pour cela, le tout est placé dans un pot à centrifugation de 100 ml de capacité et est soumis à des alternances de chauffage dans un B.M. à + 40° C et d'agitations assez violentes durant trente à quarante-cinq minutes dans un agitateur mécanique jusqu'à disparition totale des pastilles de soude. On centrifuge, élimine le résidu et titre l'alcalinité de la liqueur. On ajuste par addition d'alcool absolu à 7 p. 100 en NaOH p/v (*). Enfin on ajoute doucement et en refroidissant 10 ml de sulfure de carbone pour analyses R.P. à 90 ml de la solution ajustée. On mélange et filtre. Le réactif est de **conservation limitée**, aussi le conserve-t-on au réfrigérateur et le **renouvelle-t-on** systématiquement tous les **quinze jours.** Une légère précipitation ne change en rien sa valeur, il suffit d'agiter pour remettre le précipité en suspension au moment de la préparation de la solution d'extraction.

Le **réactif d'extraction** est préparé **au moment de l'emploi** par mélange de 3 ml de solution de xanthate avec 57 ml de tétrachlorure de carbone. Ce réactif ne peut se conserver plus de trente-six heures.

— acide nitrique pour toxicologie R.P., d : 1,38 ;

— acide perchlorique à 65 p. 100 pour analyses R. P., d : 1,615.

2° **Technique opératoire.**

Tous nos essais ont été effectués sur des échantillons de sang (10 ml) dans lesquels nous avons vérifié préalablement l'absence d'arsenic et d'antimoine décelables par notre méthode.

Les prises d'essai sont additionnées des métalloïdes toxiques sous forme de dilutions convenables des solutions stock d'arseniate de soude et de trichlorure d'antimoine précédem-

(*) Klein et Vorhes préparent l'alcoolate de sodium par simple agitation pendant 15 min. après chauffage à + 40° C. Ce temps est insuffisant pour obtenir une solution de concentration égale ou supérieure à 7 p. 100 en soude ; ce corps en pastilles est en effet assez difficilement soluble dans l'alcool absolu.

ment décrites (*). Le procédé de minéralisation est celui que nous avons déjà employé pour l'arsenic seul (**), mais en utilisant 5 ml de SO_4H_2 au lieu de 7. Le résidu obtenu contient donc les métalloïdes toxiques dans 5 ml d'acide sulfurique concentré.

a) **Réduction à la valence + 3 de l'arsenic et de l'antimoine contenus dans le minéralisat.**

Le résidu de cette première minéralisation est dilué après refroidissement par 20 ml d'eau distillée. On ajoute 0,50 g d'urée et porte à l'ébullition quelques minutes pour détruire le sulfate acide de nitrosyle. La solution encore chaude est ensuite transvasée dans un bécher de 150 ml et le ballon ayant servi à la minéralisation rincé à deux reprises par 15 ml d'eau distillée ; les liquides de lavage sont réunis au produit initial. On additionne la liqueur de 15 ml d'acide sulfurique concentré, mélange avec un petit agitateur et ajoute immédiatement 20 ml de solution d'iodure de potassium. On laisse la réduction s'opérer pendant 10 minutes.

La solution est ensuite transvasée en s'aidant de l'agitateur dans une ampoule à décantation de 250 ml dont la douille est garnie d'une mèche de coton hydrophile. Le bécher est lavé à l'aide de 50 ml d'eau employés en plusieurs fractions et les eaux de lavage sont ajoutées au contenu de l'ampoule.

On décolore celui-ci à l'aide de la solution d'hyposulfite ajoutée goutte à goutte. Si par la suite, lors de l'extraction, de l'iode est libéré à nouveau on l'élimine immédiatement à l'aide de quelques gouttes d'hyposulfite.

b) **Formation et extraction des xanthates.**

On admet dans l'ampoule 25 ml du réactif d'extraction préparé extemporanément, bouche et agite **immédiatement** et énergiquement pendant deux minutes. Après séparation des phases, on décante la couche inférieure dans un bécher de 100 ml contenant quelques billes de verre. On effectue ensuite deux autres extractions semblables avec, respectivement 20 et 15 ml de réactif et réunit la totalité de la phase extractive dans le même bécher. On lave à deux reprises l'ampoule et son contenu avec, chaque fois, 5 ml de tétrachlorure de carbone et ajoute ces liqueurs de lavage au produit principal.

c) **Elimination du tétrachlorure de carbone par volatilisation.**

L'extrait organique est évaporé avec précaution au bain de

(*) Cf. chapitre II, section IV, p. 104 et chapitre IV, section III, p. 135.
(**) Cf. chapitre III, section IV, p. 112.

sable jusqu'à ce qu'il ne reste plus que 2 ou 3 ml de liqueur dans le fond du bécher. On laisse alors refroidir et transvase ce résidu, en s'aidant à nouveau d'un petit agitateur, dans le flacon générateur même où s'effectuera la réduction en hydrures. On rince le bécher à deux reprises avec 2 ou 3 ml de tétrachlorure et réunit des liqueurs de lavage au résidu organique.

On évapore enfin le tout à siccité dans la vapeur d'un bain-marie, en s'aidant à la fin du vide. Le fond du flacon apparaît tapissé par un résidu de quelques mg, jaune plus ou moins rougeâtre, constitué par les xanthates métalliques et par des produits organiques ayant résisté à la minéralisation sulfonitrique et passés dans le tétrachlorure de carbone.

d) **Minéralisation sulfo-nitro-perchlorique.**

Nous avons employé pour amener l'arsenic et l'antimoine sous une forme compatible avec les conditions nécessaires à une bonne distillation des hydrures, la méthode que Kahane [25] a mise au point pour la destruction de produits organiques chimiquement définis et contenant de l'arsenic, en vue du dosage de cet élément. Pour cela, on prépare d'abord le réactif d'attaque en mélangeant :

SO_4H_2	d	:	1,83	**7 ml**
ClO_4H	d	:	1,615	2 ml
NO_3H	d	:	1,38	1 ml

On ajoute au résidu 2 ml de ce réactif, puis commence à chauffer doucement le fond du flacon en interposant au-dessus de la flamme une grille garnie d'amiante. Peu à peu, on augmente le chauffage avec prudence, jusqu'à porter le mélange à une vive ébullition. On laisse l'attaque se poursuivre ainsi jusqu'à décoloration totale et jusqu'à ce que l'ébullition devienne irrégulière et moins vive : à ce stade, les acides nitrique et perchlorique ont agi successivement sur les matières organiques et leurs excès ont distillé, déplacés par l'acide sulfurique moins volatil qu'eux. On retire alors le flacon du feu et le place dans un bain de sable où l'évaporation de l'acide sulfurique continue doucement ; cette opération est poursuivie jusqu'à siccité : le fond du flacon est alors tapissé par un feutrage de petits cristaux blancs et la minéralisation est totale. On laisse refroidir, dissout le résidu dans 5 ml de ClH 2 N (*), ajoute quelques cristaux d'urée et porte à l'ébullition quelques instants.

e) **Distillation des hydrures.**

Après nouveau refroidissement, on ajoute 2 ml d'eau dis-

(*) La totalité du résidu n'est pas soluble, un léger insoluble persiste mais il semble être sans influence sur la formation des hydrures.

tillée, introduit 7 g de zinc « Merck » et coiffe l'appareil du dispositif à dégagement déjà décrit (*). L'extrémité capillaire recourbée du tube servant à l'introduction des réactifs a été préalablement garnie d'environ 1 cm d'eau qui sert de joint liquide s'opposant à toute perte de gaz par cette voie au moment de l'introduction du zinc dans la solution chlorhydrique. On continue ensuite selon la technique décrite pour la distillation de l'arsenic seul (**).

3° Discussion et justification expérimentale de la méthode.

a) Choix des milieux biologiques testés

C'est intentionnellement que nous avons choisi le sang pour effectuer ces essais. En effet, pour ce milieu plus qu'avec les urines, les résidus de minéralisation sont assez fortement colorés en jaune par des dérivés nitrés aromatiques formés lors de l'attaque sulfonitrique et résistant à cette dernière. Or, ces corps passent dans le tétrachlorure lors de l'extraction, en minime partie certes, mais suffisamment pour perturber le dégagement de l'hydrogène antimonié dans le générateur si la minéralisation terminale n'a pas été assez énergique. Pour éprouver la valeur de notre méthode nous avons donc préféré partir de sang plutôt que d'urines, le premier milieu étant plus apte à provoquer un déficit en antimoine. Nous reparlerons d'ailleurs par la suite de cette incidence importante des milieux insuffisamment minéralisés sur la distillation de l'hydrogène antimonié.

b) Réduction de l'arsenic et de l'antimoine contenus dans le minéralisat.

La destruction préalable du sulfate de nitrosyle par **l'urée** est absolument **nécessaire.** Si l'on néglige cette précaution, l'oxydation de l'iodure est très importante et violente (il se produit même un dégagement visible de vapeurs d'iode) ; le réducteur est donc consommé en grande quantité par des oxydants parasites et il est possible qu'alors il ne soit plus en quantité suffisante pour réduire l'arsenic et l'antimoine qui se trouvent à l'état pentavalent. Or la présence de ces éléments à la valence +3 est nécessaire pour la formation de xanthates extractibles par le tétrachlorure.

Comme notre résidu de minéralisation ne contient que 5 ml d'acide sulfurique concentré alors que ceux utilisés par Klein et Vorhes en contiennent 20 (***), nous ajustons l'acidité par addition de 15 ml de ce réactif. Le volume total de la solution sulfurique soumise à la réduction iodhydrique est, compte tenu de l'eau de lavage utilisée, celui exigé par les auteurs de la méthode (soit 70 ml).

Plutôt que de procéder à un transvasement dans l'ampoule à décantation et à une décoloration immédiate de la liqueur comme Klein et Vorhes, nous avons préféré laisser à la réduction le temps d'être complète, nous inspirant en cela de la classique méthode iodométrique de dosage des arséniates [1, 6].

Enfin nous ne sommes pas tenu de décolorer la solution par la quantité stoechiométrique d'hyposulfite sans excès, quoique cependant nous n'ayons pas intérêt à diluer inutilement le milieu. Mais la formation de soufre colloïdal, son passage dans le tétrachlorure de carbone et son oxydation finale en acide sulfurique n'ont pour nous aucune importance puisque nous terminons par une minéralisation en présence

(*) Cf. chapitre III, section III, p. 105, fig. 10.

(**) Cf. chapitre III, section III, p. 107 et suivantes.

(***) Les minéralisations sont effectuées par ces auteurs à l'aide de la méthode de l'A.O.A.C. [35] qui utilise 20 ml d'acide sulfurique.

d'un excès de cet acide, éliminé ensuite totalement. Cette possibilité d'utilisation sans inconvénient d'un léger excès d'hyposulfite présente l'avantage suivant : lors des extractions par le réactif xanthique, quelquefois (surtout si l'on est interrompu) l'excès d'iodure s'oxyde spontanément en milieu acide et l'iode libéré passe en majeure partie dans le tétrachlorure de carbone, alors que l'iodure reste surtout dans la phase aqueuse ; cette présence d'iode dans la phase organique contenant les xanthates d'arsenic et d'antimoine peut avoir pour effet une oxydation des métalloïdes les rendant insolubles dans ce milieu, d'où pertes. L'emploi de quelques gouttes d'hyposulfite remédie aussitôt à cette oxydation spontanée et évite les inconvénients consécutifs possibles.

c) **Formation et extraction des xanthates.**

La mèche de coton placée dans la douille de l'ampoule a pour but de retenir les quelques gouttes de liquide aqueux pouvant être entraînées mécaniquement par le tétrachlorure lors des décantations ; ainsi retenues ces minimes portions du liquide à extraire sont lavées par les passages successifs à leur contact des liqueurs organiques et ainsi cèdent à celles-ci l'arsenic et l'antimoine qui s'y trouvent, évitant des pertes. Cette même mèche de coton évite également d'autres pertes d'origine mécanique : lors des décantations, la douille de l'ampoule, de diamètre intérieur faible, reste remplie de liqueur d'extraction ; sans la présence du coton, lors de l'agitation suivante, ce contenu risque d'être perdu par projections : le coton retient dans ses mailles ce liquide et évite ainsi les projections intempestives.

Dans le but d'obtenir une extraction aussi complète que possible, nous avons porté les volumes de réactif d'extraction à 25, 20 et 15 ml au lieu de 25, 15 et 15 utilisés par Klein et Vorhes.

Après l'agitation, lorsque s'effectue la séparation des phases, le tétrachlorure de carbone, dont la densité est de 1,6, gagne rapidement la partie inférieure de l'ampoule et entraîne dans ce mouvement des bulles d'air emprisonnées. Celles-ci ont évidemment tendance à effectuer le mouvement inverse et à regagner la surface des liquides, mais certaines sont retenues à l'interphase par la forte tension interfaciale existant, créant ainsi une sorte d'émulsion où la limite entre le tétrachlorure et le liquide aqueux n'est pas nette. Cette partie n'est pas décantée et est laissée dans l'ampoule après chaque extraction ; ceci n'a aucune importance, car les deux lavages terminaux par le tétrachlorure pur suffisent à entraîner les petites quantités de xanthates ayant pu être ainsi retenues à l'interphase.

Nous avons supprimé à ce stade tout lavage à l'acide chlorhydrique stanneux. En effet, un tel traitement était impossible, éliminant l'antimoine que nous voulons recueillir en même temps que l'arsenic. D'autre part, la présence de xanthate d'étain n'est pas une gêne pour nous car ce métal n'est pas susceptible de distiller à l'état d'hydrure volatil ; il reste donc dans le liquide du générateur. Quant au cuivre, il est évident que sa présence sous forme d'iodure cuivreux dans le tétrachlorure est susceptible par génération d'iode d'entraîner une perte en arsenic et peut-être en antimoine par oxydation ; cet inconvénient ne peut être éliminé. Mais il est bien rare de rencontrer cet élément en quantités importantes dans les milieux biologiques courants et ce ne sont pas les doses infimes de ce biocatalyseur contenues dans le sang qui peuvent être génératrices d'inconvénients majeurs ; d'ailleurs nous n'avons jamais constaté l'apparition d'iode dans les extraits au tétrachlorure même en les abandonnant une nuit avant leur évaporation.

d) **Elimination du tétrachlorure de carbone**

Nous effectuons cette évaporation en deux temps pour les raisons suivantes :

— l'évaporation à siccité au bain de sable serait une opération trop brutale entraînant à la fin un charbonnement des matières orga-

niques ; même une surveillance constante ne permet pas d'éviter un tel résultat ;

— l'évaporation en totalité dans la vapeur du bain-marie qui est au contraire très douce demande beaucoup trop de temps.

Aussi avons-nous préféré combiner les deux procédés, utilisant le premier pour éliminer la majeure partie du tétrachlorure et le second pour terminer, nous aidant à la fin d'une légère aspiration par le vide pour éliminer les dernières gouttes de solvant.

La couleur du résidu de xanthates peut varier du jaune franc au grenat selon les proportions respectives de dérivés arsénieux et antimonieux présents.

e) **Minéralisation finale.**

C'est cette partie de la méthode que nous avons eu le plus de difficultés à mettre au point.

En effet, nous avons déjà fait remarquer que la minéralisation sulfo-nitrique initiale laissait inattaqués des noyaux aromatiques nitrés (on peut les caractériser par la réaction xanthoprotéique), et que ces composés passaient en partie dans le tétrachlorure et se retrouvaient à la fin dans les flacons générateurs mélangés aux xanthates. Divers essais nous ont montré que la **présence** de ces dérivés dans le milieu lors de la distillation des hydrures avait pour effet de provoquer une **insolubilisation importante d'antimoine** dans le générateur analogue à celle que nous avions constatée lors des essais réalisés avec le procédé de Cribier (*). Cette insolubilisation se produit dès le début de l'attaque du zinc et nous avons pu caractériser comme nous l'avons déjà fait l'antimoine insolubilisé par le réactif de Fauchon - Vignoli.

Avant d'adopter définitivement la méthode sulfo-nitro-perchlorique pour la minéralisation des xanthates et des produits organiques les accompagnant, nous avons effectué divers essais d'oxydation de ce résidu.

— **Emploi de l'eau bromée à saturation.** — Après évaporation du tétrachlorure, le résidu est repris à la façon de Klein et Vorhes par 20 ml d'eau de brome. Auparavant, un trait de jauge à 7 ml a été marqué sur le flacon. La solution est portée au bain de sable et soumise à une douce ébullition pour chasser la totalité du brome en excès, puis elle est amenée par concentration à un volume inférieur d'au moins 1 ml à 7 ml. On laisse refroidir, ajoute 1 ml d'acide chlorhydrique fumant et complète s'il y a lieu à 7 ml avec de l'eau distillée. On est ainsi dans les conditions de concentration en acide que nous avons imposées au milieu initial servant à la distillaton des hydrures. On effectue ensuite l'hydrogénation de la manière habituelle.

Les résultats furent très mauvais : l'apparition d'antimoine insolubilisé dans le générateur est immédiate ; si pour 100 mcg d'arsenic et d'antimoine introduits au départ, nous avons retrouvé 92 mcg d'arsenic, le résultat n'a été pour l'antimoine que de 39 mcg.

— **Oxydation par le chlore naissant.** — Deux séries différentes d'essais ont été réalisées :

Dans les premiers, le résidu est repris par 1 ml de solution de chlorate de potassium à 3 p. 100 et 2 ml d'acide chlorhydrique fumant ; après action du chlore formé, celui-ci est éliminé par addition de 4 ml d'ammoniaque pour analyses et le tout est évaporé à siccité au bain de sable ; après refroidissement le résidu est dissous dans 5 ml de ClH 2N, on ajoute 2 ml d'eau et procède à la distillation des hydrures ; les résultats furent meilleurs pour l'antimoine (19,5 et 20 mcg, soit 65 et 67 % pour une quantité initiale de 30 mcg),

(*) Cf. p. 134.

mais la première vague de l'arsenic, celle-là même qui sert au dosage, était sérieusement perturbée, rendant toute évaluation impossible ; elle était dédoublée en deux vagues interférant l'une sur l'autre dont les potentiels de demi-palier étaient — 0,34 et — 0,50 volt ; la deuxième vague, en revanche, était normale ; signalons que le témoin, préparé en utilisant la partie non noircie du papier au nitrate d'argent ayant séjourné dans le tube à dégagement, a donné le même polarogramme anormal ; on pouvait donc conclure qu'une substance volatile s'était dégagée dans le générateur et s'était fixée sur la totalité du papier, perturbant la première vague de l'arsenic.

Pour la **deuxième série d'essais**, nous avons procédé différemment : le résidu de xanthates est repris par les mêmes réactifs que précédemment (ClO_3K, ClH puis NH_4OH), mais la solution n'est pas evaporée à sec ; on la chauffe seulement légèrement pour chasser l'ammoniac en excès. Après refroidissement, on effectue la distillation désormais classique en portant cependant la première addition d'acide chlorhydrique stanneux à 2 ml au lieu de 1 ml pour tenir compte de l'absence d'acide libre dans le milieu initial. Si la vague de l'arsenic était ici normale, en revanche le déficit en antimoine était très important et l'insolubilisation dans le générateur abondante : pour une prise d'essai contenant 100 mcg d'arsenic et d'antimoine nous avons retrouvé lors de deux essais respectivement 94,5 et 86 mcg d'arsenic, et 28,5 et 12 mcg d'antimoine.

— **Oxydation nitrique et minéralisation sulfonitrique.** — Une **première série** d'essais a porté sur un **milieu** de départ synthétique **ne renfermant pas de produits organiques.** Nous avons opéré en ajoutant les prises d'essai contenant l'arsenic et l'antimoine à 50 ml d'eau distillée acidifiée par 20 ml d'acide sulfurique. Nous avons procédé ensuite de la manière déjà décrite jusqu'à l'isolement des xanthates qui, cette fois-ci, étaient exempts de produits organiques parasites. Le résidu est alors repris par 2 ml d'acide nitrique pour toxicologie et évaporé à sec au bain de sable ; une semblable opération est répétée jusqu'à ce que l'acide nitrique ajouté ne brunisse plus. Le résidu sec est alors repris par 5 ml de ClH 2N, on ajoute quelques cristaux d'urée et porte à l'ébullition ; après refroidissement on ajoute 2 ml d'eau et continue de la manière habituelle. Les résultats obtenus furent plus encourageants : au cours de trois essais, pour **100 mcg d'arsenic et d'antimoine** initiaux nous avons retrouvé : **92,5, 92 et 85,5 mcg d'arsenic et 87,5, 84,5 et 89,5 mcg d'antimoine.**

Voulant répéter ces essais sur **10 ml de sang**, les résultats furent beaucoup plus **mauvais** : pour 50 mcg d'arsenic et d'antimoine testés nous avons retrouvé : 46,5 et 43,5 mcg pour l'arsenic, soit 93 et 87 %, et 17,1 et 23,5 mcg pour l'antimoine (34 et 47 %) ; d'autre part la première vague de l'arsenic malgré tout interprétable présentait un épaulement vers — 0,34 volt.

Enfin, dans une **dernière série** d'essais, nous avons réalisé sur le résidu une **véritable minéralisation sulfonitrique** utilisant 1 ml d'acide sulfurique concentré pour toxicologie et ajoutant l'acide nitrique goutte à goutte au fur et à mesure de son élimination dès que le liquide de destruction commençait à brunir. Voici quelques résultats :

Arsenic et antimoine contenus dans la prise d'essai (en mcg)	Arsenic et antimoine retrouvés (en mcg)			Rendements en % des doses testées		
As : 10 Sb : 20 (3 essais)	As : 9,35 Sb : 11,9	9 9,95	9,25 9,8	93 59	90 50	92 49
As : 50 Sb : 50 (3 essais)	As : 44 Sb : 27,5	47,5 31,5	45,5 31,5	88 55	95 63	91 63

La comparaison des résultats des trois séries d'essais que nous venons d'exposer montre que si une **minéralisation incomplète** du résidu de xanthates semble avoir peu d'influence sur le rendement en arsenic. en revanche celui de l'**antimoine** semble être **affecté considérablement.** En effet les rendements obtenus en partant de milieux synthétiques seulement minéraux et en opérant une simple oxydation nitrique sont bons et les résultats groupés ; dès que l'on s'adresse à un milieu biologique les chiffres s'abaissent considérablement et l'insolubilisation de l'antimoine dans le générateur est manifeste ; si enfin l'on effectue une véritable minéralisation sulfonitrique, la distillation de l'hydrogène antimonié est nettement améliorée. Nous pensons que le déficit constaté est probablement dû à la présence dans le générateur de composés organiques insuffisamment minéralisés au départ et entraînés dans le tétrachlorure de carbone ; ils seraient responsables de l'insolubilisation de l'antimoine et certains d'entre eux volatilisables seraient entraînés par le courant d'hydrogène et fixés par le papier, avec comme conséquence la perturbation de la première vague de l'arsenic.

— **Essais réalisés en vue de l'élimination préalable des composés organiques gênants.** — Partant de cette idée et nous basant sur le fait que ces corps passaient dans la phase organique, nous avons voulu essayer de les éliminer avant l'extraction par un **lavage** de la solution avec le **tétrachlorure.** Pour ce faire, après réduction du milieu par l'iodure et décoloration par l'hyposulfite, nous avons effectué trois lavages successifs avec ce solvant, procédant ensuite à la transformation en xanthates et à l'extraction habituelle ; la minéralisation terminale était sulfonitrique. Les résultats ne confirmèrent pas nos espérances : pour 50 mcg de chacun des métalloïdes testés, nous n'avons retrouvé que 17,2 mcg d'arsenic (34 %) et 4 d'antimoine (8 %). D'ailleurs, il était visible que chaque lavage n'enlevait qu'une minime partie des dérivés organiques parasites (caractérisés par la réaction xanthoprotéique), la majeure partie restant dans la phase aqueuse ; d'autre part, le tétrachlorure de lavage enlèverait en grande partie les iodures arsénieux et antimonieux.

Pensant que ces nitrophénols passeraient plus facilement dans un solvant polaire, nous avons essayé l'**éther.** Tout d'abord nous avons procédé comme plus haut, c'est-à-dire par lavage après réduction de l'arsenic et de l'antimoine : les pertes, moins considérables qu'avec le tétrachlorure, étaient néanmoins toujours importantes : pour deux essais effectués avec 50 mcg d'arsenic et d'antimoine, nous avons retrouvé 32,6 et 31,5 mcg d'arsenic (65 et 63 %), et 14,4 et 7 mcg d'antimoine (29 et 14 %). Supposant que ces déficits étaient entraînés en majeure partie par une dissolution des ions trivalents dans l'éther, nous avons effectué encore un essai en procédant au lavage avant réduction iodhydrique sur la liqueur acide diluée provenant directement de la minéralisation initiale : pour 200 mcg de chacun des métalloïdes testés nous avons retrouvé 110 mcg d'arsenic (55 %) et pratiquement pas d'antimoine.

— **Minéralisation sulfo-nitro-perchlorique.** — Décidant d'abandonner toute recherche dans le sens d'une élimination préalable des composés organiques parasites, nous nous sommes adressé à une manière d'opérer réalisant une minéralisation plus complète que le procédé sulfonitrique. Seule la méthode de Kahane présentait cet avantage.

Comme la masse à attaquer était extrêmement minime (quelques mg) nous avons adopté non pas la méthode que cet auteur a mise au point pour la toxicologie où de grandes quantités de matière sont traitées, mais plutôt le procédé qu'il applique à la chimie organique. Quoique cette méthode soit réputée dangereuse, la réaction risquant de s'emballer et de devenir explosive, nous n'avons **jamais eu,** au cours de nos essais, **le plus minime incident,** mais nous avons **observé scrupuleusement les conditions opératoires décrites par Kahane** [25] ; l'acide sulfurique en grande quantité agit comme diluant de l'acide perchlorique, et celui-ci ne se trouvant jamais en excès, la réaction ne peut s'emballer.

L'attaque commence quelquefois à froid dès l'addition du mélange sulfo-nitro-perchlorique ; lorsqu'elle a tendance à se ralentir on commence le chauffage que l'on pousse progressivement : l'acide nitrique réagit d'abord et il se produit un abondant dégagement de vapeurs nitreuses suivi de la distillation de l'excès de cet acide. Vers la fin de cette phase, l'acide perchlorique intervient à son tour en provoquant une attaque généralement assez vive mais n'imposant pas, dans notre cas, l'interruption du chauffage. Cette deuxième phase est brève et l'excès d'acide perchlorique distille cependant que commencent à s'élever les vapeurs caractéristiques de l'acide sulfurique. A ce stade, quelquefois, il se produit une condensation d'acide perchlorique sur le col du flacon et celui-ci peut retomber dans l'acide sulfurique bouillant : il se fait alors une vive effervescence et le liquide se colore en jaune par formation de chlore résultant de la destruction de l'acide perchlorique ; cet incident assez courant est sans conséquence et ne nous a jamais obligé à interrompre ou même à réduire le chauffage ; en continuant celui-ci le chlore est chassé et, à la fin, lorsque l'ébullition devient irrégulière, la liqueur ne contient plus que de l'acide sulfurique et est parfaitement incolore. On porte alors au bain de sable pour chasser la totalité de ce dernier.

Le procédé est très rapide (moins de dix minutes pour distiller la totalité des acides nitrique et perchlorique) et spectaculaire : l'attaque est immédiate et totale. Il nous a donné entière satisfaction ainsi que le prouvent les résultats que nous avons obtenus.

4° **Résultats.**

Un **essai à blanc** des réactifs nous a permis de déceler **0,5 mcg d'arsenic et 1 mcg d'antimoine** (*). Ces chiffres ont été déduits des résultats que nous donnons. Comme pour les précédents essais effectués en introduisant directement les échantillons dans le générateur, nous avons enregistré selon le besoin un ou deux polarogrammes en utilisant pour chaque cas le filtre et la sensibilité adéquats.

(*) Signalons au passage que la présence de ce métalloïde n'est généralement pas signalée par les fabricants.

Quantités testées et conditions opératoires	Arsenic retrouvé		Antimoine retrouvé	
	Valeur absolue en mcg	Rendements en % de la dose testée	Valeur absolue en mcg	Rendements en % de la dose testée
Prise d'essai : As 5 mcg Sb 100 mcg Volume du réactif d'extraction : 2 ml Deux enregistrements :	3,15	63	91,6	92
pour As : sensibilité 3 μA, filtre 2 pour Sb : sensibilité 20 μA, filtre 1 (2 essais)	2,95	59	91,6	92
Prise d'essai : As 125 mcg Sb 25 mcg Volume du réactif d'extraction : 3 ml Deux enregistrements :	110,7	89	22,1	88
pour As : sensibilité 30 μA, filtre 1 pour Sb : sensibilité 5 μA, filtre 1 (3 essais)	111,9	90	22,1	88
	105,9	85	22,8	91
Prise d'essai : As 10 mcg Sb 25 mcg	8,9	89	20,6	82
Volume du réactif d'extraction : 2 ml	8,9	89	21,9	88
Un seul enregistrement : sensibilité 5 μA, filtre 1 (3 essais)	9,2	92	20,9	84
Prise d'essai : As 50 mcg Sb 50 mcg	44,5	89	45,2	90
Volume du réactif d'extraction : 5 ml	42,5	85	45	90
Un seul enregistrement : sensibilité 10 μA, filtre 1 (3 essais)	42,5	85	43	86

5° Discussion des résultats.

Nous retrouvons donc en moyenne **88 % ± 4 %** (erreur standard ± 0,89) de **l'arsenic** de la prise d'essai et **88 % ± 6 % de l'antimoine** (erreur standard ± 1,00).

En comparant ces résultats avec ceux que nous avons déjà obtenus, on peut faire les remarques suivantes :

— pour **l'arsenic**, la méthode est **moins bonne** que celle utilisant la formation **d'arséniate ammoniaco-magnésien** pour l'isolement (*) ; elle n'est **pas aussi sensible**, car au-dessous de 10 mcg les rendements baissent notablement et de telles

(*) Cf. chapitre III, section III, p. 115.

doses ne peuvent plus être retenues dans la marge d'application de la méthode ; au-dessus, le rendement moyen est inférieur (rappelons que nous retrouvions alors 91 % de l'arsenic testé) ; mais cette dernière ne s'adressait qu'à l'arsenic seul. Par rapport aux résultats obtenus en introduisant directement les prises d'essais dans le générateur (*), l'écart est moins important (6 % en moyenne) avec celle-ci qu'avec la méthode actuelle utilisant l'isolement à l'état de xanthate (9 %).

— pour **l'antimoine**, il est remarquable de constater que les opérations de **minéralisation et d'isolement n'affectent pas le rendement** : en effet, en introduisant de l'antimoine seul directement dans le générateur, nous en avons retrouvé 89 % (**) ; mélangé avec l'arsenic et en procédant de même, le rendement a été de 87 % (***) ; et ici, en partant de milieux biologiques et mélangé à l'arsenic, 88 % sont retrouvés lors du dosage polarographique. Cependant, les résultats sont **un peu plus dispersés** que lors des précédents essais (écart maximum par rapport à la moyenne : 6 % au lieu de 4 et 5 %).

Nous pensons pouvoir expliquer ces différences de résultats entre l'arsenic et l'antimoine par des pertes se produisant lors des minéralisations ; en effet, l'arsenic à la valence + 3 et en présence d'ions Cl^- est susceptible de se volatiliser à une température inférieure à celle nécessaire pour la distillation du trichlorure d'antimoine. Or, lors de la minéralisation du sang, le milieu est riche en chlorures et des phases réductrices se produisent au moment des brunissements de la masse, conditions pouvant provoquer des pertes en arsenic par ce processus ; lors de la minéralisation sulfo-nitro-perchlorique terminale, la présence d'ions Cl^- apportés par l'acide perchlorique détruit, peut être aussi génératrice d'un phénomène de même ordre. Il est possible également que la présence d'un léger insoluble dans le générateur soit en partie responsable des pertes.

Quoi qu'il en soit, notre méthode est un réel progrès, car il était jusqu'à présent absolument impossible d'effectuer un dosage de l'arsenic et de l'antimoine présents ensemble dans les milieux biologiques en utilisant la distillation des hydrures. A titre de comparaison, nous avons effectué deux essais à partir de 10 ml de sang, que nous avons additionné de 200 mcg d'arsenic et d'antimoine. Nous avons procédé selon la méthode classique de Cribier, mais avec papier au nitrate d'argent et

---

(*) Cf. chapitre III, section III, p. 103 et chapitre III, section III, p. 110.

(**) Cf. chapitre IV, section III, p. 135 et suivantes.

(***) Cf. chapitre IV, section III, p. 140 et 141.

en terminant par le dosage polarographique sans aucun isolement intermédiaire d'aucune sorte. Nous avons retrouvé :

pour l'arsenic : 143,5 et 127,5 mcg (72 et 64 %) (*)

pour l'antimoine : 8,75 et 12,5 mcg (4 et 6 %).

(*) Il n'y a pas lieu de s'étonner de ces résultats supérieurs à ceux obtenus dans les mêmes conditions en partant d'urines contenant seulement de l'arsenic (cf. chapitre III, section I, p. 92. En effet, ces derniers milieux minéralisés étaient riches en sels insolubles alors que les minéralisats de sang n'en contenaient pas. Or on connaît l'influence néfaste de ces composés sur la formation et la distillation de l'arsine.

SECTION V

ETUDE POLAROGRAPHIQUE DE LA REACTION ENTRE L'HYDROGENE ANTIMONIE ET LE NITRATE D'ARGENT

A) TRAVAUX ANTERIEURS

Nous avons déjà fait remarquer que la possibilité de caractérisation et de dosage polarographiques de l'antimoine retenu par un papier au nitrate d'argent après contact avec l'hydrogène antimonié, était en contradiction avec la théorie classique ; celle-ci veut, en effet, qu'avec ce réactif en solution, l'hydrure d'antimoine ne soit pas oxydé mais fournisse une simple réaction de déplacement :

$$SbH_3 + 3\ NO_3Ag \rightarrow SbAg_3 + 3\ NO_3H$$

A côté de cette considération préliminaire, une simple constatation macroscopique permet de voir que les ions argent sont bien réduits sur le papier et que la tache noire n'est pas due à la seule présence d'antimoniure. En effet, ce dernier sel est soluble dans les solutions d'acide tartrique [7] ; or, après traitement du papier par le réactif chlorhydrique-tartrique, la **tache noire persiste intégralement** ; si elle était due à $SbAg_3$ elle devrait disparaître ou s'atténuer plus ou moins. Nous pensons que cette constatation permet de conclure à la présence majeure d'argent réduit sur le papier avec comme conséquence formation d'ion Sb^{+3} extractible par le réactif de Haight.

Les travaux de Wecks et Druce [54] et de Reckleben [43] permettent de penser qu'il en est de même pour le nitrate d'argent en solution, avec des quantités d'hydrogène antimonié de l'ordre de 100 mcg. Ce dernier auteur pense que la réaction de l'hydrure d'antimoine avec le nitrate d'argent est semblable à celle qui se produit selon lui avec l'arsine [44] : **il se formerait tout d'abord de l'antimoniure d'argent selon la réaction écrite plus haut, antimoniure qui se transformerait ensuite en grande partie en acide antimonieux en réagissant avec l'excès de nitrate d'argent :**

$$SbAg_3 + 3\ NO_3Ag + 3\ OH_2 \rightarrow 6\ Ag + SbO_3H_3 + 3\ NO_3H$$

La seule différence entre l'arsenic et l'antimoine résiderait dans le fait que l'acide arsénieux passerait en totalité en solution alors que **l'acide antimonieux** peu soluble resterait essentiellement dans le **précipité** ; mais grâce à l'acidification du milieu par l'acide nitrique formé, une petite partie tout de même se solubiliserait.

En définitive, après barbotage de l'hydrogène antimonié dans une solution de nitrate d'argent on se trouverait en présence :

— d'un **précipité** formé en majeure partie **d'argent réduit** et **d'hydrate antimonieux** et d'une petite quantité **d'antimoniure d'argent** ;

— et d'une **liqueur** surnageante contenant **l'excès de nitrate d'argent**, ainsi que de petites quantités **d'acide nitrique** et **d'antimoine à la valence** + 3 passé en solution.

Nous avons voulu dans la suite de ce travail contrôler si les conclusions de Reckleben s'appliquaient aux petites quantités d'hydrogène antimonié qui sont courantes en toxicologie et voir si les réactions qui se passaient ainsi en solution ne pouvaient expliquer la présence d'antimoine à la valence + 3 dans le papier au nitrate d'argent.

B) TRAVAUX PERSONNELS PRELIMINAIRES

Détermination de la concentration optimum de la solution de nitrate d'argent à employer. — Pour être sûr que la solution de nitrate d'argent, dans laquelle nous ferions barboter les gaz par la suite, retiendrait la totalité de l'hydrogène antimonié distillé, nous avons d'abord essayé plusieurs solutions de concentrations différentes. Pour cela, nous avons opéré dans les appareils de verre à rodages que nous avons fait construire et selon le mode opératoire déjà décrit. Mais les tubes à dégagement, au lieu d'être garnis de papier réactif, plongeaient dans des tubes à centrifuger, gradués de 10 ml, contenant 2 ml de solutions de nitrate d'argent de concentrations variables. Chaque barboteur ainsi formé était hermétiquement obstrué à sa partie supérieure par un morceau de papier réactif au nitrate d'argent. Une dose unique de 100 mcg de Sb^{+3}, sous un volume de 5 ml, était introduite dans chaque générateur.

Lorsque la distillation est terminée, le contenu des tubes est centrifugé et le liquide éliminé. Le précipité brun noir, ainsi que l'extrémité des tubes à dégagement, sont lavés deux fois avec 2 ml d'eau bidistillée bouillante. Puis, on introduit dans les tubes à centrifuger contenant toujours l'extrémité des tubes à dégagement, 3 ml de réactif chlorhydrique-tartrique molaire et porte au bain-marie à + 40° C pendant 30 minutes, en agitant de temps en temps. On refroidit ensuite 5 minutes dans la glace fondante et effectue le dosage polarographique de la solution, après avoir préalablement centrifugé pour éliminer le résidu solide restant dans le tube.

Quant aux papiers coiffant les barboteurs, leur partie noircie est traitée de la façon habituelle pour permettre de doser l'antimoine qui s'y est fixé.

Une première constatation nous a été imposée, dès avant le dosage polarographique : le **précipité brun chocolat** formé lors du dégagement est **solubilisé** en presque totalité par le réactif de Haight et le minime **résidu** restant prend une coloration **gris métallique**. Ceci semble donc plaider en faveur de la présence **concomitante d'antimoniure d'argent** (précipité brun chocolat) et **d'argent réduit** (résidu gris métallique).

Les dosages polarographiques nous ont permis de constater qu'une concentration de 1 p. 100 au moins en nitrate d'argent était nécessaire pour que le papier de garde ne contienne pas d'antimoine et donc pour que la stibine soit retenue en totalité dans le barboteur. En voici les résultats (*) :

Concentration en NO_3Ag du réactif	0,05 %	0,10 %	1 %	2,5 %	5 %	10 %
Antimoine retrouvé par polarographie dans le précipité (en mcg)	20	41	41,5 39	45,5 43,5	46 42	43,5
Antimoine retrouvé par polarographie dans le papier de garde (en mcg)	21	6	0	0	0	0

La concentration optimum en nitrate d'argent semble donc être de 2,5 p. 100. En effet, c'est pour elle que les rendements les meilleurs et les plus constants ont été obtenus. D'autre part nous l'avons adoptée pour la suite des essais de préférence aux solutions plus concentrées, pour éviter la présence d'un grand excès d'ions Ag^+ qui, on l'a vu, sont gênants lors d'un dosage polarographique.

Ces essais préliminaires ont permis également de voir que dans le précipité il y avait environ 45 mcg d'antimoine à la valence + 3.

C) DETERMINATION DE LA VALENCE ET EVALUATION DE L'ANTIMOINE CONTENU DANS LE PRECIPITE

1° Barbotage des gaz dans une solution légèrement acide de nitrate d'argent (pH = 4).

Nous avons opéré dans les conditions exposées précédemment avec la solution de nitrate d'argent à 2,5 p. 100 dont nous

(*) Ces résultats ainsi que tous ceux donnés dans cette section n'ont pas la prétention d'être rigoureusement quantitatifs. Ce ne sont que de simples évaluations destinées à élucider le mécanisme de la réaction.

avons déterminé grossièrement le pH à l'aide d'un papier indicateur universel.

Certains essais ont été traités après la fin du dégagement comme nous **l'avons déjà décrit**, ce qui nous a confirmé un chiffre moyen de 45 mcg d'antimoine à la valence + 3 dans le précipité (pour 100 mcg mis en œuvre au départ).

D'autres précipités ont été attaqués par le **chlore naissant** après lavage à l'eau bidistillée bouillante ; pour cela on introduit dans le tube à centrifuger 0,1 ml de solution à 3 p. 100 de chlorate de potassium pour analyses R.P. et 0,2 ml d'acide chlorhydrique fumant pour analyses R.P. On agite légèrement, et lorsque le précipité est totalement dissous, ajoute 0,4 ml d'ammoniaque pour analyses R.P., ce qui a pour effet d'éliminer le chlore en excès à l'état de chlorure d'ammonium avec dégagement d'azote. On évapore d'abord au bain de sable avec précaution, en évitant les projections, puis, avant que la masse pâteuse contenue dans le fond du tube ne commence à crépiter, on termine par un séjour d'une heure à l'étuve à + 100° à + 105° C. On laisse refroidir et dissout le résidu dans 5 ml de ClH 2N, solution dans laquelle on fait barboter de l'anhydride sulfureux pendant 5 minutes. Les tubes sont ensuite bouchés et abandonnés toute la nuit.

Le lendemain, le niveau supérieur du liquide dans le tube est d'abord repéré grâce à la graduation du verre et l'anhydride sulfureux chassé en maintenant une douce ébullition jusqu'à ce que les vapeurs ne réduisent plus un papier imprégné extemporanément de solution de permanganate de potassium à 1 p. 100. Durant toute la durée de cette ébullition on ajuste constamment le niveau du liquide dans le tube par ajout d'eau distillée goutte à goutte.

On laisse refroidir et lorsque le tube a regagné la température ambiante, complète éventuellement au trait de jauge avec de l'eau distillée. On achève enfin de chasser l'anhydride sulfureux complètement, en faisant barboter de l'azote dans la solution pendant 15 minutes. On ajoute alors au milieu un égal volume de solution d'acide tartrique 2M (on est ainsi ramené aux conditions de milieu de Haight), refroidit 5 minutes dans la glace fondante et polarographie après le dégazage habituel.

Un pareil procédé permet de retrouver certainement **tout l'antimoine** contenu dans le précipité quel que soit son état de valence ; en effet, le traitement par le chlore naissant l'oxyde en totalité à la valence + 5. Ensuite, la réduction par l'anhydride sulfureux le réduit à l'état + 3. Le résultat trouvé par

polarographie est donc la somme de l'antimoine à la valence + 3 et de l'antimoine se trouvant sous une autre valence (vraisemblablement — 3) et contenu dans le précipité.

Pour 100 mcg d'antimoine testés, nous avons retrouvé lors de 6 essais différents : 71, 82, 72,5, 82, 71 et 79,5 mcg, soit en moyenne 77.

A ce stade on peut donc conclure provisoirement que par barbotage de l'hydrogène antimonié produit à partir de 100 mcg d'antimoine, dans une solution de nitrate d'argent à 2,5 p. 100 de pH 4 environ :

— **77 % de l'antimoine** se trouvent dans le **précipité** (au lieu de 88 % au moins dans le papier).

— Sur ces 77 %, **45 % sont à la valence + 3, les 32 % restant** n'étant sûrement pas sous cet état de valence mais probablement à **l'état de Sb^{-3}**.

2° **Barbotage des gaz dans une solution fortement acide ou alcaline de nitrate d'argent.**

Pour essayer de préciser si le **déficit** de l'ordre de 10 % que nous constatons **par rapport au papier** n'était pas dû à une **dissolution de l'acide antimonieux** formé dans le liquide grâce à la libération progressive **d'acide nitrique** à partir du nitrate d'argent ayant réagi, nous avons effectué deux séries d'essais en rendant les milieux réactionnels fortement acides ou nettement alcalins.

a) Nous avons préparé un **milieu de pH 1** environ (évalué au papier indicateur) en mélangeant :

solution de NO_3Ag à 5 p. 100	1 ml
NO_3H R.P. pour toxicologie	0,1 ml
eau distillée	0,9 ml

Pour **deux essais,** le précipité a été **oxydé** par le **chlore naissant,** puis réduit par l'anhydride sulfureux avant d'être traité par le réactif chlorhydrique-tartrique et polarographié ; 100 mcg d'antimoine ayant été introduits dans le générateur, nous avons retrouvé 25 et 23 mcg.

Pour **deux autres** essais, le précipité a été **directement dissous** dans le réactif de Haight et polarographié ; les résultats ont été deux fois 25 mcg.

Donc, **l'acidification** du milieu provoque une **perte** notable de l'antimoine contenu dans le précipité (les deux tiers environ). La **moitié de l'acide antimonieux disparaît,** probablement dissous par l'acidité du liquide. Quant à l'antimoine sous forme

d'**antimoniure d'argent**, il a totalement disparu, puisqu'on retrouve les mêmes résultats en dosant l'antimoine à la valence + 3 et l'antimoine total dans le précipité ; il est loisible de penser que l'antimoniure d'argent est décomposé par l'acide nitrique en excès en formant de l'hydrogène antimonié qui s'échappe de la solution. D'ailleurs, nous avons constaté, lors du barbotage des gaz et de la centrifugation des tubes, que le précipité formé était beaucoup moins important et coloré en noir que lorsque l'on opère avec une solution de nitrate d'argent non acidifiée.

b) Le milieu réactif **alcalin** a été préparé en mélangeant :

solution de NO_3Ag à 5 p. 100	1 ml
ammoniaque pour analyse R.P.	0,5 ml
eau distillée	0,5 ml

Comme pour le milieu acidifié, sur deux essais nous avons dosé la totalité de l'antimoine du précipité et sur deux autres seulement l'antimoine à la valence + 3. Dans le premier cas, toujours pour une dose de 100 mcg initiale, nous avons retrouvé 43 et 45,5 mcg et dans le second 5 et 6 mcg.

Donc, dans un tel milieu, on ne retrouve que **très peu d'acide antimonieux dans le précipité** ; il est probablement oxydé à l'état antimonique grâce à la présence d'alcali dans une réaction du type de celle qui a lieu avec l'arsenic dans de semblables conditions [39], puis dissous dans l'excès de cet alcali à l'état d'antimoniate. C'est le fait que, non plus, nous ne retrouvions pas la même quantité d'antimoine total qu'avec un réactif de pH 4 (déficit de 33 % environ) qui nous fait supposer cette solubilisation. En effet, si l'antimoine oxydé à la valence + 5 restait insolubilisé dans le précipité, nous devrions retrouver un résultat de l'ordre de 77 mcg ; or, nous n'en retrouvons qu'environ 44 ; si sur ces 44 mcg, on admet que 32 sont à l'état d'antimoniure d'argent et 5 ou 6 à l'état d'acide antimonieux, il ne reste que 6 à 7 mcg pour l'acide antimonique. Donc celui-ci, s'il s'est formé, et l'analogie avec l'arsenic nous porte à le croire, s'est dissous en presque totalité dans l'excès d'alcali et a ainsi échappé au dosage.

Les résultats des dosages de l'antimoine dans le précipité obtenu en milieu acidifié nous laissent à penser qu'effectivement le **déficit de 10 à 11 % par rapport au papier est bien dû à l'autoacidification progressive du milieu.** Quant à ceux obtenus à partir d'un milieu alcalinisé, ils ne nous permettent pas de tirer une conclusion quelconque vu l'action perturbatrice de l'ammoniaque sur le mécanisme habituel des réactions.

3° **Barbotage des gaz dans une solution de nitrate d'argent contenant une bouillie de papier Arches 302.**

Si tous ces dosages nous confirmaient bien que dans la réaction de l'hydrogène antimonié avec le nitrate d'argent en solution il y avait formation prépondérante d'antimoine à la valence + 3 accompagné d'antimoine à la valence — 3, ils ne nous expliquaient pas pourquoi avec un papier au nitrate d'argent, l'ensemble des réactions était encore plus orienté vers la formation d'antimoine électropositif (88 % au lieu de 45 % de l'antimoine mis en œuvre).

Nous avons voulu voir quelle pouvait être, à ce point de vue, l'action de la présence de papier dans un tel milieu liquide. Pour cela, nous avons préparé de la façon suivante une solution de nitrate d'argent à 2,5 p. 100 contenant de la bouillie de papier :

solution de NO_2Ag à 5 p. 100	1 ml
bouillie de papier Arches 302 dans l'eau distillée	1 ml

et avons fait barboter l'hydrogène antimonié dans ce milieu. Pour les deux essais au cours desquels le dosage de l'antimoine total a été effectué, nous avons retrouvé 76 et 71 mcg (pour 100 mcg initiaux) et pour les deux essais où nous avons dosé seulement l'acide antimonieux 45,5 et 43.

Ces résultats, **identiques** à ceux obtenus à partir d'un **milieu limpide**, ne nous ont pas apporté la solution du problème ; cependant, nous avons constaté que le précipité formé dans de tels barboteurs semblait avoir de l'affinité pour le papier et n'adhérait pas aux parois des tubes comme dans les essais précédents. N'oublions pas, néanmoins, que les conditions sont ici différentes de ce qu'elles sont au contact d'un papier préalablement desséché : la quantité d'eau susceptible d'intervenir est bien supérieure à ce qu'elle est dans le papier et peut-être celui-ci doit-il être sec pour posséder pleinement une action catalytique sur la formation d'acide antimonieux.

D) CONCLUSIONS SUR LE MECANISME DE LA REACTION

Ces essais nous montrent donc que **l'hypothèse de Reckleben** est également **valable** pour les **petites quantités** d'hydrogène antimonié (bien inférieures au mg) :

— il se forme au contact du **nitrate d'argent en solution, de l'acide antimonieux de façon prépondérante, presque tout**

insolubilisé, ainsi qu'une certaine quantité d'antimoniure d'argent ;

— avec un **papier au nitrate d'argent, il semble que la formation du dérivé oxygéné de l'antimoine soit favorisée,** soit par action catalytique, soit peut-être grâce à une consommation par le papier lui-même de l'acide nitrique formé, ce qui permettrait aux réactions de formation de l'antimoine à la valence + 3 d'être plus complètes.

BIBLIOGRAPHIE

[1]. — Arnoux M. et Pastor J. : Guide de travaux pratiques d'analyse quantitative; volumétrie - Office universitaire de Polycopie, éd., Aix-en-Provence, 2e édition, page 90.
[2]. — Brame : C.R., 1856, *43*, 33.
[3]. — Castagnou R., Quilichini R. et Faure J. : Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1953, *91*, 245.
[4]. — Ciechanowski : Ann. Hyg., 1898, *40*, 127.
[5]. — Ciochina : Bull. Soc. Pharm. Roumania, 1925, 7, 2627.
[6]. — Codex Medicamentarius Gallicus : Ordre National des Pharmaciens, éd. 1949, 7e édition, p. 773.
[7]. — Couillaud J.J. : Contribution à l'étude toxicologique de l'antimoine - Thèse Pharmacie (Université), Bordeaux, 1937.
[8]. — Crawford T.B.B. et Storey I.D.E. : Biochem. J., 1944, *38*, 195.
[9]. — Cribier J. : Sur la recherche de l'arsenic disséminé dans les médicaments chimiques - Thèse Pharmacie, Paris, 1921.
[10]. — Deniges : C.R., 1890, *111*, 824.
[11]. — Douris R. : Toxicologie moderne, Vigot éd., Paris, 1951.
[12]. — Ekind A., Gayer K.H. et Boltz D. : Anal. Chem., 1953, *25*, 1744.
[13]. — Fabre R. : Leçons de Toxicologie - Act. Sci. Ind., Hermann et Cie éd., Paris, 1945, 292-976, IX.
[14]. — Fabre R., Truhaut R., Laham S. et Vallery L. : Ann. Pharm. Fr., 1954, *12*, 698.
[15]. — Fauchon L. : Contribution à l'étude du dosage de l'antimoine et de quelques-unes de ses réactions - Thèse Pharmacie (Université), Marseille, 1937.
[15 *bis*]. — Fauchon L. : J. Pharm. Chim., 1937, *25*, 537.
[16]. — Fauchon L. et Vignoli L. : J. Pharm. Chim., 1937, *24*, 541.
[17]. — Faure J. : Dosage toxicologique de l'arsenic et de l'antimoine seuls ou en mélange après hydrogénation électrolytique - Thèse Pharmacie (diplôme d'Etat), Bordeaux, 1953.
[18]. — Freedmann L.D. : Anal. Chem., 1947, *19*, 502.
[19]. — Goto H. et Kapita Y. : Science Repts. Research. Inst. Tokohu Univ., 1952, *A4*, 589.

[20]. — Goto H., Kapita Y. et Furukawa T. : Nippon Kogaku Zasshi, 1958, *79*, 1513.
[21]. — Haight G.P. : Anal. Chem., 1954, *26*, 593.
[22]. — Hugounencq : Traité des poissons - Masson éd., Paris, 1891.
[23]. — "Journal Officiel" du 24 mars 1959 - Décret n° 59-450 du 20 mars 1959.
[24]. — Julliard : Contribution à l'étude pharmacodynamique des dérivés métalliques du thiopropane sulfonate de sodium - Thèse Pharmacie, Lyon, 1931.
[25]. — Kahane E. : L'action de l'acide perchlorique sur les matières organiques - Act. Sci. Ind. Hermann et Cie éd., Paris, 1934, 168, II, p. 69.
[26]. — Khorasani S.S.M. et Kundkar M.H. : Anal. Chim. Acta, 1959, *21*, 24.
[27]. — Klein A.K. et Vorhes F.A. Jr : J. Assoc. Official Agr. Chemists, 1939, *22*, 121.
[28]. — Kohn-Abrest E. : Précis de Toxicologie, Doin et Cie éd., Paris, 1955.
[29]. — Kuznetsov V.I. : Zhur. Anal. Khim. (U.R.S.S.), 1947, *2*, 179.
[30]. — Lassaigne : C.R., 1845, *21*, 1324.
[31]. — Mac Chesney E.W. : Ind. Eng. Chem., 1946, *18*, 146.
[32]. — Mareu Th. : Anal. Chem. 1947, *12*, 487.
[33]. — Naquet : Précis de Chimie légale - Savy éd., Paris, 1873.
[34]. — Newbery : J. Chem. Soc., 1907, *109*, 1.391.
[35]. — Official and tentative methods of Analysis of the A.O.A.C. - W. Horwitz ed., Washington, 1945, 6th edition, p. 437.
[36]. — Ogier et Khon - Abrest E. : Chimie Toxicologique - Doin éd., Paris, 1924.
[37]. — Paneth : Z. Elektrochem, 1920, *26*, 452.
[38]. — Paneth, Matthies et Schmidt - Hebbel : Ber. der Deutschen Chem. Gesel., 1922, *55 B*, 775.
[39]. — Pascal P. : Nouveau traité de chimie minérale - Masson et Cie éd., Paris, 1958, IX, Monographie de Dolique R., p. 117.
[40]. — Pascal P. : *Ibid* - Monographie de Bothorel P., p. 550.
[41]. — Pfaff : Pogg. Ann. der Physik., 1837, *40*, 135.
[42]. — Rapatel A. : VII[e] Congrès national des pharmaciens des hôpitaux de province, 1959, p. 27.
[43]. — Reckleben H. : Ber. der Deutschen Chem. Gesel., 1909, *42*, 1458.
[44]. — Reckleben H., Lockemann et Eckardt : Z. anal. Chem., 1907, *46*, 671.
[45]. — Rodier J., Graude C. et Rodi L. : Bull. Inst. Hyg. Maroc, 1954, *14*, 289.

[46]. — Romano C. : Zacchia, 1951, 14, 146.
[47]. — Sanger et Riegel : Zeit. f. angew. Chem., 1910, 48.
[48]. — Sanger et Gibson : J. Soc. Chem. Ind., 1907, *26*, 585.
[49]. — Snell F.D. et Snell C.T. : Colorimetric methods of analysis - D. Van Nostrand C° Inc. éd., New-York, 1949, 3th edition, II, p. 188.
[50]. — Stock et Doth : Ber. der Deutschen Chem. Gesel., 1901, *34*, 2339 et 3592, et 1902, *35*, 2270.
[51]. — Strafford N., Wyatt P.F. et Kershaw F.G. : Analyst, 1945, *70*, 232.
[52]. — Tarugi et Sorbini : Boll. Chim. Farm., 1912, *51*, 361, et Abs. Chem. Zentr., 1912, 11, 1399.
[53]. — Thompson : Philosophical Magazine, 1837, *10*, 253.
[54]. — Wecks et Druce : J. Chem. Soc., 1925, *127*, 1069.
[55]. — Wecks et Druce : Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, 1925, *44*, 970.
[56]. — Wenger P., Duckert R. et Ankajdi E. : Helv. Chim. Acta., 1945, *28*, 1592.
[57]. — Zaikovskii E.V. : Zhur. Anal. Khim (U.R.S.S.), 1954, *9*, 155.
[58]. — Zinzadze : Ind. Eng. Chem., 1935, 7, 227.

CHAPITRE V

DISCUSSION D'ENSEMBLE DES RESULTATS OBTENUS ESSAIS D'APPLICATION DU PROCEDE POLAROGRAPHIQUE A LA TECHNIQUE DE BOUGAULT — GENERALISATION

Section I

DISCUSSION COMPARATIVE DES METHODES PRECEDEMMENT ETUDIEES

A. — METHODE DE CRIBIER ET METHODES DE PHARMACOPEES ETRANGERES

1° Distillation des hydrures à partir de milieux purs

a) Cas de l'arsenic

Cribier, considérant qu'il était plus sûr d'oxyder tout l'arsenic des prises d'essai à l'état pentavalent plutôt que de le réduire à la valence + 3, employait, nous l'avons vu, l'oxydation permanganique préalable. Cette uniformisation de la valence de l'arsenic testé avait pour but de donner toute sa valeur comparative à la méthode puisque les taches obtenues sur le papier au chlorure mercurique sont plus courtes lorsqu'elles sont produites à partir de la transformation en arsine de l'arsenic pentavalent plutôt que de l'arsenic à la valence + 3. D'autre part, l'oxydation permanganique avait l'avantage en amenant à leur valence maximum tous les dérivés hypooxygénés du soufre et du phosphore, d'éviter les réductions ultérieures à l'état d'hydrures volatils susceptibles d'impressionner le papier mercurique.

Mais cette peroxydation de l'arsenic présente l'inconvénient de diminuer sensiblement le rendement en hydrogène arsénié distillé. Griffon et Buisson avaient déjà constaté expérimentalement que tout l'arsenic testé ne se retrouvait pas dans le

papier réactif. Jaulmes, plus tard, démontra par le calcul qu'en appliquant la technique de Cribier à l'arsenic pentavalent, on ne pouvait espérer retrouver dans le papier que 80 % de l'arsenic mis en œuvre (*). Au contraire, l'arsenic trivalent traité de la même façon mais sans peroxydation préalable, pouvait se retrouver dans le papier dans la proportion de 93,5 %. Les résultats de Vignoli et Cristau (**) ont confirmé pour l'arsenic pentavalent que le chiffre de Jaulmes était plus près de la réalité que celui de Griffon et Buisson.

Nos propres recherches sur les **méthodes anglo-saxonnes et de la Pharmacopée Internationale** ont également confirmé que la **réduction préalable de l'arsenic à la valence + 3 était favorable** à la distillation de l'arsine ; en effet, les meilleurs résultats ont été obtenus avec la dernière méthode (88 % en moyenne de l'arsenic mis en œuvre est retrouvé). Rappelons que ce procédé réalise la réduction préalable de l'arsenic à la valence + 3 à l'aide de chlorure stanneux en milieu chlorhydrique sans utiliser d'iodure de potassium. En revanche, la **présence concomitante de ces deux adjuvants semble défavorable** à la distillation de l'hydrure et la méthode de la **British Pharmacopoeia**, par exemple, qui procède de la même façon que la Pharmacopée Internationale en ajoutant seulement 1 g d'iodure de potassium, accuse un déficit moyen de 6 % par rapport au chiffre retrouvé par celle-ci. D'ailleurs, Thiele [19], Bougault [3], Pluchon [17], Fauchon [8 bis], puis Cristau [5] ont montré que la présence d'iodure catalysait la réduction des sels d'arsenic en arsenic métalloïdique par le réactif hypophosphoreux chlorhydrique. Il est possible qu'une catalyse de cet ordre ait lieu également lorsque la réduction s'effectue à l'aide de chlorure stanneux en milieu chlorhydrique. Ainsi, une partie de l'arsenic rendue insoluble dans ces conditions, échapperait à l'hydrogénation ultérieure le transformant en arsine volatile.

Enfin, l'emploi d'**acide chlorhydrique** pour la génération d'hydrogène par attaque du zinc, rend possible une accélération de la réaction en **augmentant la température** du milieu réactionnel (***). Une semblable façon d'opérer est impossible avec la méthode de Cribier dans laquelle les générateurs sont refroidis au contraire à 0° C sous peine de voir l'acide sulfurique réduit à l'état d'hydrogène sulfuré impressionnant le papier réactif et ainsi générateur d'erreurs.

(*) Soulignons encore une fois la différence des chiffres trouvés par Griffon et Buisson (20 à 30 %) et calculés théoriquement par Jaulmes (80 %).

(**) Ces auteurs retrouvent, rappelons-le, 75 % de l'arsenic mis en œuvre.

(***) + 40° C pour les Pharmacopées internationale et britannique, + 20° à + 25° C pour les méthodes américaines.

b) **Cas de l'antimoine**

On savait déjà, nous l'avons dit, que si la présence d'antimoine était susceptible de fausser le dosage de l'arsenic dans la méthode de Cribier, l'hydrogène antimonié impressionnant le papier mercurique, la distillation de ce gaz n'était pas quantitative dans un procédé de ce genre.

L'application de la méthode polarographique au dosage de la stibine distillée ainsi nous a permis de montrer que :

— **le dégagement d'hydrogène antimonié n'est jamais quantitatif**, les pertes étant proportionnellement d'autant plus importantes que la quantité mise en œuvre est plus faible ;

— une **grande partie de l'antimoine est insolubilisée** dans le générateur ;

— comme pour l'arsenic, l'état de **valence + 3 est plus favorable** à la distillation de l'hydrure que l'état pentavalent ;

— contrairement à l'opinion généralement admise, **l'augmentation légère de la température** du milieu réactionnel ne favorise pas l'insolubilisation de l'antimoine mais au contraire **augmente le rendement** en hydrogène antimonié.

2° **Recherche et dosage des métalloïdes toxiques contenus dans les milieux biologiques**

a) **Cas de l'arsenic**

Nos recherches ont confirmé que les conclusions de Griffon et Buisson concernant **l'influence défavorable** sur la distillation de l'arsine des **sels minéraux étrangers** solubles et insolubles provenant des minéralisats biologiques, étaient parfaitement valables. En effet, des essais effectués selon la technique classique sans isolement préalable de l'arsenic, à partir de résidus de minéralisation comportant un important précipité, ont montré que le rendement en arsenic tombait autour de 40 % au lieu de 75 % en introduisant la prise d'essai directement dans le générateur.

En revanche, la présence de **phénols nitrés** ayant résisté à la minéralisation **ne semble pas** avoir une **influence** notable sur la distillation de l'hydrure ; en partant de sang, milieu fournissant un minéralisat riche en produits organiques inattaqués mais pauvre en sels insolubles, nous avons retrouvé environ 68 % de l'arsenic testé, chiffre correspondant à celui que nous retrouvons en effectuant un isolement préalable.

Néanmoins, pour la plupart des milieux biologiques, **l'isolement préalable semble indispensable**, même avec la technique de Cribier. Nous l'avons effectué dans ce cas sous forme

d'arséniate ammoniaco-magnésien, ce qui nous a permis de retrouver, entre 50 et 150 mcg, 68 % de l'arsenic mis en œuvre avec un écart maximum de ± 5 %, réalisant ainsi un procédé tout à fait valable et rapide de dosage de l'arsenic contenu dans les milieux biologiques.

b) **Cas de l'antimoine**

Si nous étions arrivé à retrouver jusqu'à plus de 70 % de la quantité de métalloïde introduite dans le générateur, à condition d'opérer sur des prises d'essai de 100 mcg au moins, l'antimoine étant à la valence +3 et l'hydrogénation s'effectuant à la température ambiante, les résultats obtenus en opérant à partir de milieux biologiques, confirmèrent **l'impossibilité de doser ce toxique par la méthode de Cribier.** En effet, dans ce cas, nous n'avons retrouvé qu'environ 5 % de la dose mise en œuvre en partant pourtant des quantités les plus importantes que nous ayions essayées, soit 200 mcg.

Comme dans ces essais nous opérions à partir de sang et non d'urine (donc d'un résidu de minéralisation riche en phénols nitrés et pauvre en sels insolubles), nous pensons que pour ce métalloïde à l'inverse de l'arsenic, c'est surtout **la présence de produits organiques insuffisamment minéralisés qui favorise son insolubilisation et le déficit en hydrure volatil.** Nous l'avons d'ailleurs démontré à propos de la mise au point de notre propre méthode de dosage.

B) METHODES PERSONNELLES

On a vu comment, partant des résultats et constatations précédentes, des remarques de Griffon et Buisson et de la théorie de Jaulmes vérifiée par Rivemale, nous avons mis au point deux méthodes d'identification et de dosage :

— l'une s'adressant à l'arsenic seul,

— l'autre à l'arsenic et à l'antimoine en mélange, mais pouvant aussi s'appliquer à l'antimoine ou à l'arsenic isolés.

a) **Méthode réalisant l'isolement de l'arsenic à l'état d'arséniate ammoniaco-magnésien**

Cette méthode permet donc l'identification et le dosage de l'arsenic, éliminant toute interférence possible de l'antimoine.

Rappelons tout d'abord les grandes lignes :

— minéralisation sulfonitrique dans l'appareil de Pien ;

— isolement de l'arsenic à l'état d'arséniate ammoniaco-magnésien ;

— solubilisation de ce composé dans ClH N ;

— réductions successives (à + 40° C) du métalloïde pentavalent à la valence + 3 puis à l'état d'hydrogène arsénié, distillation de ce gaz et oxydation à l'état +3 au contact d'un papier au nitrate d'argent;

— extraction des ions arsénieux en traitant le papier par un réactif chlorhydrique-tartrique molaire ;

— identification et dosage polarographiques de l'arsenic dans ce milieu.

Ce procédé nous a permis de :

— confirmer, une fois de plus, que la **réduction de l'arsenic à la valence +3** préalablement à l'hydrogénation avait pour effet de rendre la méthode véritablement **quantitative**; partant de l'arsenic pentavalent ou trivalent nous avons retrouvé en effet dans les deux cas 97 % en moyenne de la quantité essayée;

— obtenir une distillation pratiquement quantitative de l'hydrogène arsénié, aux erreurs expérimentales près;

— montrer que la **qualité du zinc employé** pour la production d'hydrogène avait une **influence** sur la génération de l'arsine;

— **identifier et doser** avec une bonne précision, **l'arsenic** contenu dans les milieux biologiques : nous retrouvons 91 % de celui-ci entre 5 et 100 mcg et les chiffres les plus éloignés de cette moyenne ne s'en écartent pas au delà de 3 %.

b) **Méthode réalisant l'isolement de l'arsenic et de l'antimoine à l'état de xanthates**

Indispensable dans le cas de l'antimoine seul ou de l'arsenic et de l'antimoine en mélange, le procédé semble inférieur au précédent s'il est appliqué à l'arsenic seul.

Nous l'avons déjà exposé, il comporte :

— minéralisation sulfonitrique dans l'appareil de Pien ;

— réduction à la valence +3 des métalloïdes pentavalents contenus dans le minéralisat par l'acide iodhydrique en milieu sulfurique ;

— formation et extraction par le tétrachlorure de carbone des éthyl-xanthates arsénieux et antimonieux ;

— évaporation du solvant, minéralisation sulfo-nitro-perchlorique des xanthates et reprise du résidu par ClH 2N ;

— réductions successives à + 40° C des métalloïdes à la valence + 3 puis à l'état d'hydrure volatil ; distillation du gaz et oxydation à l'état +3 au contact d'un papier au nitrate d'argent ;

— extraction des ions arsénieux et antimonieux en traitant le papier par un réactif chlorhydrique-tartrique molaire;

— identification et dosage polarographiques des métalloïdes dans ce milieu.

L'hydrogénation et la distillation des hydrures appliquées aux prises d'essai introduites directement dans le générateur permettent de retrouver en moyenne :

— 89 % ± 4 % pour l'antimoine seul,

— 87 % ± 5 % pour l'antimoine, et 97 % ± 3 % pour l'arsenic, les deux métalloïdes étant dosés ensemble.

En partant de sang contenant à la fois l'arsenic et l'antimoine nous retrouvons pour le premier 88 % ± 4 % et pour le second 88 % ± 6 %.

Si l'on opère sur un milieu minéral en réalisant la transformation en xanthates suivie de la distillation des hydrures habituelle (seule la première minéralisation sulfo-nitrique est supprimée), mais en effectuant seulement une oxydation nitrique au lieu du traitement sulfo-nitro-perchlorique, on retrouve environ 90 % de l'arsenic et 88 % de l'antimoine mis en œuvre.

Enfin, si l'on effectue l'hydrogénation sur un milieu insuffisamment minéralisé, contenant notamment des phénols nitrés, les rendements en arsenic sont toujours du même ordre alors qu'ils s'effondrent pour l'antimoine tandis qu'apparaît dans le générateur le métalloïde insolubilisé.

Nous pensons pouvoir conclure au vu de ces résultats que :

— **la distillation de l'arsine et le dosage polarographique de l'arsenic ne semblent absolument pas gênés par la présence d'antimoine et réciproquement**; on retrouve, en effet, en partant de prises d'essai introduites directement dans le générateur :

toujours 97 % en moyenne de l'arsenic mis en œuvre, qu'il soit seul ou en présence d'antimoine,
87 à 89 % de l'antimoine dans les deux cas;

— le **déficit en arsenic** constaté ici par rapport au rendement de la première méthode (88 % au lieu de 91 %) est vraisemblablement dû à des **pertes par volatilisation de trichlorure d'arsenic** lors de l'attaque sulfo-nitro-perchlorique : alors que les chiffres trouvés pour l'antimoine varient peu, que ce traitement ait lieu ou non, ceux concernant l'arsenic tombent de 97 à 88 %; dans la première méthode ne passant pas par une semblable minéralisation la perte due aux opérations d'isolement n'était que de 6 %. Ces différences s'expliquent facilement si l'on considère que le trichlorure d'arsenic distille à une température à peine supérieure à + 100° C. alors que celui d'antimoine ne se volatilise que beaucoup plus haut (*);

— **la formation et la distillation quantitatives d'hydrogène antimonié** semblent être sous la dépendance de l'absence de **produits organiques** (phénols nitrés en particulier) dans le générateur; les rendements s'effondrent avec leur présence et bien plus qu'une élévation de la température du milieu réactionnel (**), ces composés semblent être responsables de l'insolubilisation de l'antimoine.

(*) Cette propriété est d'ailleurs souvent utilisée pour séparer l'arsenic de l'antimoine dans les minéralisats de matières organiques [18].

(**) Rappelons que nous opérons à + 40° C.

Enfin, la formation et la distillation de l'hydrure appliquées aux dérivés antimoniés et la méthode polarographique nous ont permis de montrer que, contrairement à l'opinion généralement répandue, la formation d'**antimoniure d'argent n'était pas prépondérante** lorsque l'hydrogène antimonié barbote dans une solution de nitrate d'argent ; **le composé dominant est bien l'hydrate antimonieux** en majeure partie insoluble dans le réactif. Au contact d'un papier sec imprégné de nitrate d'argent, **la formation du composé oxygéné est encore favorisée** et c'est ce qui permet le dosage polarographique. Cependant, en supposant que la distillation de l'hydrogène antimonié soit aussi complète que celle de l'arsine (mais nous ne pouvons l'affirmer), il est vraisemblable qu'une minime quantité d'antimoniure d'argent (inférieure à 10 %) se forme sur le papier (*).

(*) Nous retrouvons dans le papier 87 à 89 % de l'antimoine et 97 % de l'arsenic à la valence +3 dans les meilleures conditions.

SECTION II

AVANTAGES ET INCONVENIENTS DES METHODES PERSONNELLES PROPOSEES — CONDITIONS D'EMPLOI

A) AVANTAGES ET INCONVENIENTS

1° Spécificité

Les deux vagues de réduction de l'arsenic et la vague de l'antimoine dans le milieu chlorhydrique-tartrique molaire sont absolument **caractéristiques** du toxique par les valeurs des potentiels de demi-palier et par leur allure générale (cf. les divers polarogrammes reproduits). On peut dire que le toxique « *appose sa signature* » sur le papier servant à l'enregistrement. Aucune méthode, à notre connaissance, ne possède une spécificité aussi absolue :

— celle de Cribier ne permet pas de distinguer l'arsenic de l'antimoine;

— celle de Marsh oblige à mettre en œuvre pour cela des procédés chimiques souvent délicats à pratiquer lorsqu'il s'agit de quantités de l'ordre du microgramme;

— celle de Bougault ne permet pas sur de faibles doses la distinction de l'arsenic avec le selenium ou le tellure ; pour l'antimoine et le bismuth en solutions concentrées, le réactif hypophosphoreux chlorhydrique dilué provoque l'apparition d'un trouble gris analogue à celui obtenu avec l'arsenic [8 bis] ; enfin, la présence de composés organiques hydrocarbonés est génératrice d'un précipité brun;

— celles réalisant la formation du complexe céruléomolybdique ne le sont pas plus, les ions phosphate pouvant fournir une coloration analogue;

— enfin, les diverses méthodes utilisant les propriétés oxydantes des arséniates n'ont jamais prétendu être des procédés d'identification mais seulement des méthodes de dosage lorsque la nature du toxique est déjà connue.

2° Sensibilité

Pour l'arsenic, la méthode polarographique est au moins **aussi sensible que les méthodes de Cribier, Gutzeit ou Marsh.** Elle permet, nous l'avons vu, d'identifier et d'évaluer approximativement des quantités de l'ordre de 0,5 mcg.

Pour l'antimoine, la sensibilité est du même ordre. Elle ne

peut évidemment pas être comparée aux procédés précités qui n'étant jamais, à juste titre, utilisés pour son dosage, n'ont pas été testés à ce point de vue. Rappelons cependant que Cribier considère que la sensibilité du papier au chlorure mercurique est cent fois moins grande pour l'hydrogène antimonié que pour l'hydrogène arsénié; si l'on admet donc 0,1 mcg comme limite extrême de la quantité d'arsenic susceptible d'être décelée par la méthode de Cribier, cette limite serait pour l'antimoine de l'ordre de 10 mcg. Dans ces conditions, le procédé utilisant un papier au nitrate d'argent et le dosage polarographique est au moins 50 fois plus sensible.

3° **Précision**

Les mesures sont d'une **reproductibilité très satisfaisante** pour les besoins de la toxicologie. Pour l'arsenic dosé seul, l'erreur est inférieure à 3 % au-dessus de 5 mcg. Mélangé avec l'antimoine, l'écart maximum par rapport à la moyenne des résultats est de 4 % pour l'arsenic au-dessus de 10 mcg, et de 6 % pour l'antimoine pour les quantités de ce métalloïde supérieures à 20 mcg. Les méthodes de Cribier ou de Marsh ne peuvent atteindre une telle précision. La bonne reproductibilité des résultats réside en grande partie dans le fait que le phénomène servant à la mesure (valeur du courant de diffusion) est linéairement fonction de la quantité à doser, ce qui n'est pas le cas de la longueur des anneaux dans les méthodes type Marsh ni de celle des taches dans les méthodes type Cribier, et encore moins de l'intensité des taches dans les méthodes britannique ou de la Pharmacopée Internationale. D'ailleurs, le manque notable de précision de la méthode de Cribier est matérialisé par la **nécessité pour chaque opérateur d'effectuer personnellement sa propre gamme-étalon pour être toujours rigoureusement dans les mêmes conditions**; Griffon et Buisson avaient été frappés par les différences importantes constatées dans les gammes obtenues par divers expérimentateurs opérant apparemment de la même façon. Nous allons même plus loin en prétendant que pour que la précision de la méthode de Cribier soit convenable, **chaque expérimentateur devrait préparer personnellement une nouvelle gamme-étalon avant chaque série d'essais.** Nos méthodes ne s'intéressant pas à la longueur ou à l'intensité des taches (*) mais à l'arsenic lui-même retenu dans le papier, un semblable inconvénient n'existe pas et la relation linéaire unissant la valeur du courant de diffusion à la quantité d'arsenic retenu permet d'aboutir à l'excellente précision des mesures.

(*) D'ailleurs celles-ci sont impossibles à évaluer avec précision puisqu'elles ne sont pas constituées par une tache unique mais bien par une série de portions noircies séparées par des espaces non impressionnés du fait de la disposition du papier dans le tube à dégagement.

4° **Possibilité d'identification et de dosage de l'arsenic et de l'antimoine ensemble**

Notre deuxième méthode est, à notre connaissance, absolument **la seule permettant d'obtenir un tel résultat**.

Au point de vue **qualitatif**, la constance des valeurs des potentiels de demi-palier, leur éloignement relatif et l'allure caractéristique des différentes vagues permettent, à la lecture d'un seul enregistrement, **d'affirmer ou d'infirmer** la présence dans le milieu étudié de chacun des métalloïdes toxiques.

Au point de vue **quantitatif**, l'extraction totale des xanthates par le tétrachlorure de carbone, la distillation pratiquement quantitative des hydrures dans les générateurs et l'absence d'interférences l'une sur l'autre des vagues respectives de l'arsenic et de l'antimoine servant au dosage, assurent des **résultats d'une précision largement suffisante** pour les besoins de la toxicologie classique et **leur bonne reproductibilité**.

5° **Témoignage de la présence des métalloïdes toxiques au cours de l'expertise médico-légale**

La présentation des **enregistrements graphiques**, surtout de ceux obtenus par polarographie dérivée avec leurs pics caractéristiques, constitue une **pièce à conviction**. La possibilité d'effectuer ensuite sur les **solutions ayant été électrolysées** les **réactions classiques** de recherche de l'arsenic et de l'antimoine, permet d'apporter une **preuve supplémentaire**.

En effet, le courant parcourant la cellule à électrolyse est extrêmement faible et la quantité de matière consommée pendant la durée d'un enregistrement (quelques minutes) pratiquement nulle. Le milieu polarographié a donc conservé à la fin la quasi-totalité du toxique initialement présent et celui-ci pourra être à nouveau identifié et dosé par un autre procédé.

C'est ainsi que nous avons soumis de tels milieux à l'hydrogénation classique de Cribier : nous avons obtenu pour 40 mcg d'arsenic une tache sur un papier au chlorure mercurique ayant 28 mm de longueur. De même une réaction de Bougault effectuée dans les mêmes conditions sur 50 mcg d'arsenic a permis d'obtenir un précipité noir abondant d'arsenic métalloïdique que nous avons conservé en ampoule scellée.

6° **Rapidité**

C'est sur ce chapitre que nos méthodes **pèchent le plus**. Il est évident que comparativement à l'évaluation d'un trouble d'arsenic obtenu à l'aide du réactif hypophosphoreux chlorhydrique, qui peut s'effectuer en moins d'une heure, nos métho-

des sont longues. Mais si l'on considère le temps nécessaire à la préparation d'une gamme-étalon complète de Cribier pour effectuer un seul dosage, cet inconvénient s'efface.

N'est-il pas d'ailleurs utile de sacrifier un peu de temps si ce temps permet d'identifier sans aucun doute le toxique et donne la possibilité d'affirmer que la dose retrouvée a été susceptible de provoquer ou non l'intoxication soupçonnée ?

La première méthode réalisant l'isolement de l'arsenic à l'état d'arséniate ammoniaco-magnésien demande 10 à 12 heures en tout. Mais durant tout ce temps la présence de l'expérimentateur n'est pas constante : c'est ainsi que pendant l'abandon du précipité d'arséniate ammoniaco-magnésien, il se trouve libéré. La distillation de l'hydrure ne demande qu'un contrôle toutes les 30 ou 45 minutes environ pour s'assurer du ralentissement du dégagement gazeux et ajouter la fraction suivante d'acide chlorhydrique stanneux; or cette distillation occupe environ la moitié du temps total demandé par l'ensemble des opérations.

La seconde méthode (isolement des métalloïdes a l'état de xanthates) est un peu plus longue (12 à 14 heures). Mais l'évaporation totale de l'acide sulfurique au bain de sable demande 3 à 4 heures pendant lesquelles aucune surveillance n'est nécessaire. La distillation des hydrures ne demande qu'une surveillance intermittente. En définitive, ce dernier procédé, quoique plus long, laisse plus de liberté à l'opérateur.

B) CONDITIONS D'EMPLOI DES METHODES PROPOSEES

En tenant compte du facteur temps, de l'importance de l'analyse effectuée, des conséquences possibles des résultats donnés et de la présence ou de l'absence d'antimoine, on utilisera selon le cas l'un des trois procédés proposés.

Pour les analyses de **routine courante** (essais de médicaments, élimination arsenicale chez un intoxiqué chronique, etc.) et en **l'absence d'antimoine** à caractériser on utilisera la **méthode de Vignoli et Cristau** appliquée aux milieux biologiques. Elle permet, en effet, aussi bien que les autres de caractériser l'arsenic avec certitude et d'en effectuer le dosage avec une précision suffisante. D'autre part, elle présente l'avantage de se dérouler en grande partie en l'absence de l'expérimentateur (distillation de l'hydrogène arsénié) ce qui évidemment procure un gain de temps appréciable.

Dans le cas d'une expertise où la nature des faits impose des **résultats plus rigoureusement quantitatifs** et si l'on est certain de **l'absence d'antimoine**, on emploiera notre première méthode (**passage par l'arséniate ammoniaco-magnésien**) car celle-ci, plus rapide que la seconde, est aussi préférable dans le cas de l'arsenic seul, les résultats obtenus étant plus proches de la quantité réellement existante dans le milieu soumis à l'expertise.

Enfin, dans tous les cas, si la **présence d'antimoine** est soupçonnée, on emploiera la méthode utilisant le **passage à l'état de xanthates.**

Chacune de ces méthodes possède donc, à notre avis, des indications bien déterminées et toutes doivent permettre de fournir des résultats compatibles avec la nature du travail demandé.

SECTION III

APPLICATION DE LA METHODE POLAROGRAPHIQUE AU DOSAGE DE L'ARSENIC INSOLUBILISE PAR LE PROCEDE DE BOUGAULT — GENERALISATION A L'IDENTIFICATION ET AU DOSAGE DE L'ARSENIC ISOLE PAR TOUS LES PROCEDES CLASSIQUES

A) APPLICATION A LA REACTION DE BOUGAULT

Devant les résultats obtenus pour l'identification et le dosage polarographiques de l'arsenic isolé à l'état d'hydrure volatil, nous avons pensé qu'il était certainement possible d'étendre ce procédé physique à la caractérisation et au dosage de l'arsenic isolé par les autres méthodes classiques.

Nous avons choisi comme exemple la méthode de Bougault [2].

On sait que celle-ci consiste à réduire les solutions arsénieuses ou arséniques en arsenic métalloïdique par action de l'acide hypophosphoreux en milieu chlorhydrique à + 100° C sans adjuvant de réduction, ou à température ordinaire en présence d'iodure. L'arsenic insolubilisé est ensuite dosé par divers procédés :

diaphanométriquement [6, 11, 20] ;
volumétriquement après oxydation par l'iode [4, 7, 8, 15, 17), l'acide sulfurique [1] ou le sulfate cérique [14].

Plus près de nous, Vignoli et Cristau [5, 21, 22] ont mis au point un procédé colorimétrique mettant à profit les propriétés réductrices de l'arsenic métalloïdique divisé vis-à-vis du réactif phosphomolybdique de Folin et Ciocalteu. Ils ont également étudié des techniques variées de précipitation par les divers réactifs hypophosphoreux chlorhydriques proposés par la littérature et ont déterminé que celle utilisée par la **Pharmacopée Internationale** [16] donnait les meilleurs résultats. C'est également celle-ci que nous avons adoptée.

Cette Pharmacopée prépare le réactif hypophosphoreux de la façon suivante [16] sous le nom d'acide hypophosphoreux dilué AsT :

« Dissolvez 10 g d'hypophosphite de sodium dans 10 ml d'eau en chauffant modérément, ajoutez une quantité suffisante d'acide chlorhydrique AsT pour obtenir 200 ml et laissez reposer; décantez ou filtrez à travers un tampon de coton (*). »

Ce réactif est utilisé dilué d'un égal volume d'eau et en présence de II gouttes de solution de chlorure stanneux AsT au bain-marie bouillant pendant trente minutes.

Notre procédé comporte quatre étapes :

— insolubilisation de l'arsenic selon la technique de la **Pharmacopée Internationale** et en présence de sulfate de baryum pour rassembler les micelles d'arsenic colloïdal formées ;

(*) Pour éliminer le précipité de chlorure de sodium formé.

— oxydation de l'arsenic insolubilisé à l'état pentavalent par action du chlore naissant ;

— réduction à la valence +3 par action de l'anhydride sulfureux en milieu chlorhydrique 2N;

— élimination de l'excès de SO_2 puis identification et dosage polarographiques en milieu chlorhydrique-tartrique molaire.

1° Technique opératoire

a) **Insolubilisation de l'arsenic (*)**

Réactifs utilisés

— solution stock de $AsO_4\ Na_2H,\ 7\ OH_2$ à 250 mcg/ml en arsenic,

— acide hypophosphoreux dilué AsT,

— solution de chlorure stanneux AsT,

— suspension de sulfate de baryum à 30 p. 100 v/v.

Mode opératoire

La prise d'essai (contenant de 10 à 100 mcg d'arsenic) est préparée par dilution convenable de la solution stock d'arséniate de sodium. Le volume est complété à 5 ml par addition d'eau distillée et on ajoute encore II gouttes de solution de chlorure stanneux, 5 ml d'acide hypophosphoreux dilué et 0,3 ml de suspension de sulfate de baryum. Le mélange est effectué dans un grand tube à essai de 30 ml environ de capacité.

On porte au B.M. bouillant pendant 30 minutes : l'arsenic est insolubilisé à l'état métalloïdique et entraîné par le sulfate de baryum.

On laisse refroidir alors et transvase en s'aidant d'un petit agitateur dans un tube à centrifugation gradué. Le tube à essai est lavé à deux reprises par quelques dixièmes de ml d'eau distillée bouillante et les eaux de lavage réunies au produit principal.

On centrifuge pendant 3 minutes environ et élimine le liquide clair surnageant : le culot contient l'arsenic entraîné par le sulfate de baryum. On lave à deux reprises ce culot en le mettant en suspension dans 5 ml d'eau distillée bouillante et centrifuge après chaque lavage.

b) **Oxydation de l'arsenic insolubilisé**

Réactifs utilisés

— solution de ClO_3K pour analyses RP à 3 p. 100 p/v,

— ClH fumant pour analyses RP d : 1,19,

— ammoniaque pour analyses RP d : 0,9.

(*) Ce premier stade ne nous est pas personnel mais est emprunté au procédé de Vignoli et Cristau [5, 21, 22].

Mode opératoire

Il est analogue à celui que nous avons déjà utilisé pour l'oxydation du précipité d'antimoniure d'argent et d'acide antimonieux obtenu par barbotage de SbH_3 dans une solution de NO_3Ag (*).

On reprend donc le culot de centrifugation par 0,1 ml de solution de chlorate de potassium et 0,2 ml d'acide chlorhydrique et le met soigneusement en suspension à l'aide d'un petit agitateur qui est ensuite laissé dans le tube. On reconnaît facilement les parties non attaquées restées au fond du tube : elles demeurent brunes alors que le reste du culot devient parfaitement blanc. On agite donc en raclant les parois jusqu'à ce que toute la suspension ait une couleur blanche uniforme. On ajoute alors 0,4 ml d'ammoniaque et agite : le chlore en excès est transformé en chlorure d'ammonium, tandis qu'il se produit un dégagement d'azote.

On évapore ensuite d'abord au bain de sable avec précaution, en agitant la masse constamment à l'aide de l'agitateur qui est resté dans le tube, ce qui a pour effet de supprimer les projections ; puis, avant que la masse pâteuse contenue dans le fond du tube ne commence à crépiter, on termine l'évaporation par séjour d'une heure environ à l'étuve à + 100° C à + 105° C.

c) **Réduction de l'arsenic à la valence + 3**

Réactifs utilisés

— solution de ClH 2M,
— anhydride sulfureux gazeux.

Mode opératoire

Après refroidissement, le résidu sec est repris par un volume convenable de ClH 2M (entre 1 et 5 ml selon la quantité d'arsenic à doser). L'arsenic pentavalent est ainsi amené en solution, tandis que le sulfate de baryum reste insolubilisé. On sature ce milieu hétérogène par de l'anhydride sulfureux en faisant barboter ce gaz pendant 5 minutes, rejette les agitateurs, bouche le tube et abandonne une nuit.

d) **Elimination du gaz sulfureux et dosage polarographique**

Réactif utilisé

— solution d'acide tartrique 2 M (30 p. 100 p/v).

Mode opératoire

Le lendemain, on pèse le tube et repère le niveau supérieur

(*) Cf. chapitre IV, section V, p. 160.

du liquide grâce à la graduation. On chasse le SO_2 en excès en maintenant au bain de sable à une douce ébullition jusqu'à ce que les vapeurs ne réduisent plus un papier imprégné extemporanément de solution de MnO_4K à 1 p. 100. Durant toute la durée de cette ébullition, on maintient le liquide à son niveau initial par additions d'eau distillée goutte à goutte.

On laisse refroidir, pèse à nouveau les tubes et ramène au poids initial par addition d'eau distillée. Pour parfaire l'élimination du SO_2 on fait encore barboter de l'azote pendant 15 minutes. On centrifuge pendant 3 minutes environ et prélève 0,5 à 1 ml du liquide surnageant le culot de sulfate de baryum. Le prélèvement est additionné d'un égal volume de solution d'acide tartrique 2M et polarographié selon la manière habituelle après dégazage à l'azote « R ».

2° Discussion du procédé

a) Insolubilisation de l'arsenic

Nous ne reviendrons pas sur ce stade qui a donné lieu avant nous [5] à de nombreux commentaires. Nous avons fait nôtres les conclusions de Vignoli et Cristau sur le meilleur rendement du procédé utilisant un réactif dilué et la présence de chlorure stanneux.

b) Oxydation à l'état pentavalent de l'arsenic insolubilisé puis réduction ménagée à la valence + 3

N'ayant pas trouvé de réactif capable de réaliser directement une oxydation ménagée de l'arsenic métalloïdique à la valence +3, nous avons préféré l'amener d'abord à l'état pentavalent par action du chlore naissant pour le réduire ensuite sous sa forme polarographiable à l'aide de l'anhydride sulfureux.

Pour être sûr d'obtenir une réduction totale il fallait opérer avec une concentration en SO_2 voisine de la saturation [9], aussi avons-nous employé le barbotage du gaz sulfureux utilisé par Jaulmes et Turpin [12].

Le titre en acide chlorhydrique de la solution employée pour la dissolution de l'arsenic s'explique par la nécessité d'obtenir à la fin ce métalloïde dans un milieu chlorhydrique M - tartrique M. En effet, en employant à ce stade du ClH 2M et en l'additionnant ensuite d'un égal volume d'acide tartrique 2M, on obtient un milieu ayant une concentration convenable en ces deux acides.

c) Elimination du gaz sulfureux et dosage polarographique

L'anhydride sulfureux doit être complètement chassé de la solution car il fournit dans le milieu utilisé une vague interférant avec la première vague de l'arsenic [10]. C'est pourquoi nous procédons à une ébullition prolongée de la solution suivie d'un dégazage complémentaire à l'azote.

Pendant cette ébullition il est absolument **nécessaire d'éviter une concentration du milieu en acide chlorhydrique.** En effet, celui-ci étant 2M, contient 7,3 p. 100 de cet acide. Cette concentration étant inférieure à celle du mélange azéotropique (20,15 p. 100), c'est donc uniquement de l'eau qui distille par ébullition et le milieu se concentre en acide chlorhydrique. Or, Jaulmes et ses collaborateurs [13] ont montré récemment que la constante de volatilité (*) de l'arsenic

(*) Rapport de la concentration de l'arsenic dans la vapeur à la concentration dans le liquide.

trivalent en milieu chlorhydrique variait beaucoup en fonction du titre en ClH de la solution : nulle pour un titre inférieur à 6 p. 100, elle atteint 0,05 pour un titre de 13 p. 100 et 2,91 pour l'azéotrope. Le titre de la liqueur acide que nous utilisons est voisin du maximum au-dessous duquel il n'y a aucun passage d'arsenic dans la vapeur. Il convient donc, pour éviter toute perte, de maintenir ce titre aussi constant que possible et en tout cas éviter qu'il ne s'élève. C'est pourquoi nous ajoutons de l'eau distillée goutte à goutte tout le temps de l'ébullition de manière à maintenir le liquide dans le tube à son niveau primitif.

L'élévation de température faisant dilater le liquide, ce niveau n'est en réalité maintenu qu'approximativement. En procédant ainsi, par refroidissement, il reste toujours inférieur au trait de jauge ; c'est pourquoi pour revenir avant le dosage polarographique, exactement à la concentration initiale en arsenic et en acide chlorhydrique, nous ajustons au poids initial toujours par addition d'eau distillée.

3° Résultats - Discussion des résultats

Un **essai à blanc** sans arsenic nous a permis de constater que les quantités de ce métalloïde apportées par les réactifs étaient insignifiantes, pratiquement **indosables** par la méthode polarographique.

Nous avons effectué également, à titre de contrôle, trois **étalons** de polarographie dans des milieux chlorhydriques-tartriques molaires contenant respectivement 19, 47,5 et 95 mg de **chlorure d'ammonium** pour 10 ml de milieu. Ces quantités sont approximativement celles contenues dans les solutions finales essayées soumises au dosage polarographique selon que le volume de réactif chlorhydrique-tartrique est de 2,4 ou 10 ml (*). Alors qu'un étalon normal fournissait, pour une concentration de 10 mcg/ml en arsenic, une hauteur de vague de 37 mm (filtre 1, sensibilité 10 μA), ces étalons ont donné respectivement 37,5, 37 et 38 mm. Aux erreurs d'expérience près, la présence de **chlorure d'ammonium** en quantités aussi minimes est donc **sans influence** sur la hauteur de vague ; on pouvait d'ailleurs le penser à priori, l'ion ammonium ne se déchargeant pas dans la zone de potentiels balayés, et, d'autre part, ce sel étant en quantité tellement minime que la viscosité du milieu (et donc la constante de diffusion D de l'équation de Ilkovic) n'est pas sensiblement modifiée. On peut donc opérer valablement en utilisant un étalon préparé de la manière habituelle.

Arsenic testé (en mcg)	Arsenic retrouvé en valeur absolue (en mcg)				Rendement en % de la dose testée			
10 (2 essais)	4,1	3,6			41	36		
25 (4 essais)	19,5	19,5	19,5	21,1	78	78	78	84
50 (3 essais)	40	40,6	42,2		80	81	84	
100 (3 essais)	82	83,3	82		82	83	82	

(*) Volumes que nous avons utilisés au cours de nos essais.

Il semble donc **qu'au-dessous de 20 à 25 mcg les pertes en arsenic soient importantes.** Ceci est en accord avec l'opinion généralement admise qui veut que la méthode Bougault perde de sa sensibilité et de sa précision au-dessous de 20 mcg environ.

Au-dessus, l'application du procédé polarographique donne de bons résultats, puisque nous retrouvons en moyenne **81 %** de l'arsenic mis en œuvre avec un écart maximum de ± **3 %**. Certes, la méthode ne semble pas être aussi rigoureusement quantitative que celle réalisant la distillation de l'hydrure, mais les pertes enregistrées semblent être constantes et le procédé est certainement **plus précis qu'une évaluation diaphanométrique** du trouble arsenical dont les résultats dépendent non seulement de la quantité d'arsenic mise en jeu, mais également de son état physique (grosseur des micelles) variant avec les conditions de l'insolubilisation.

Il est **plus sensible que les méthodes volumétriques** utilisant l'oxydation de l'arsenic. Celles-ci ne permettent pas, en effet, d'espérer une bonne précision au-dessous de 500 mcg (*) [7, 17].

Il est enfin **absolument spécifique**, puisque l'on obtient un diagramme caractéristique de l'arsenic par les valeurs des potentiels de demi-palier et l'allure générale de la courbe. Aucune méthode utilisant le réactif hypophosphoreux chlorhydrique n'a, à notre connaissance, cette spécificité absolue.

Seules les méthodes utilisant un procédé colorimétrique pour l'évaluation de l'arsenic insolubilisé peuvent, à notre avis, rivaliser en précision et sensibilité avec notre procédé, mais elles n'en possèdent pas la spécificité.

Nos essais ne sont pas allés au-delà de 100 mcg, mais il est parfaitement possible, en augmentant le volume de la solution chlorhydrique 2M et, dans les mêmes proportions, celui de la solution d'acide tartrique 2M, d'identifier et doser des quantités plus importantes d'arsenic de manière à rester dans le milieu soumis à l'électrolyse, au-dessous de la concentration limite de 100 mcg/ml au-delà de laquelle la loi de Ilkovic n'est plus suivie.

Enfin, comme avec les méthodes utilisant la distillation de l'hydrogène arsénié, il est encore **possible** d'effectuer sur **le liquide électrolysé une réaction de Bougault, Cribier, Gutzeit ou Marsh** permettant d'apporter, lors d'une expertise, une **pièce à conviction supplémentaire.**

(*) En tenant compte de la baisse du rendement au-dessous de 20 à 25 mcg, il est encore possible en appliquant la méthode polarographique de caractériser l'arsenic sans le doser pour des quantités inférieures à 5 mcg.

B) GENERALISATION DE L'APPLICATION DU PROCEDE POLAROGRAPHIQUE A TOUTES LES METHODES CLASSIQUES REALISANT L'ISOLEMENT DE L'ARSENIC OU DE L'ANTIMOINE A PARTIR D'UN MILIEU BIOLOGIQUE

Ayant donc avec succès employé ce procédé physique pour le dosage et l'identification de l'arsenic isolé, soit sous forme d'hydrure volatil, soit sous forme du métalloïde très divisé, nous pensons qu'il est parfaitement possible d'appliquer une telle méthode chaque fois que l'arsenic a été isolé par un procédé quelconque.

Rien ne s'oppose, en principe, à son **dosage après précipitation par le chlorure stanneux** ou bien après **décomposition thermique de l'hydrure** comme dans la méthode de Marsh. Dans ce dernier procédé, en particulier, une telle caractérisation des anneaux d'arsenic et d'antimoine déposés sur les parois d'un même tube semble être particulièrement précieuse. Il suffit d'amener ces métalloïdes ensemble et sous leur valence + 3 dans un milieu chlorhydrique-tartrique molaire pour que le problème soit résolu. Nous pensons qu'une technique analogue à celle que nous avons employée pour la dissolution du précipité d'arsenic métalloïdique de la réaction de Bougault, à savoir oxydation totale à l'état pentavalent suivie d'une réduction ménagée à la valence + 3, donnerait toute satisfaction.

De même pour l'antimoine précipité à l'état métalloïdique par le **réactif de Fauchon-Vignoli,** rien ne s'oppose à priori à son dosage par le procédé polarographique, en opérant de manière analogue.

BIBLIOGRAPHIE

[1]. — Anderson C.W. : Ind. Eng. Chem., 1937, *9*, 569.
[2]. — Bougault M.J. : J. Pharm. Chim., 1902, *15*, 527.
[3]. — Bougault M.J. : *Ibid.*, 1907, *26*, 13.
[4]. — Brandt L. : Chem. Zeit., 1913, *37*, 1445, 1471 et 1496.
[5]. — Cristau B. : Dosage toxicologique de l'arsenic par spectrophotométrie et par polarographie - Thèse Sciences (Université), Marseille, 1958.
[6]. — Deniges G. : C.R. Soc. Biol., 1905, *57*, 783.
[7]. — Engel R. et Bernard : J. Pharm. Chim., 1896, *3*, 413, et C.R., 1896, *122*, 390.
[8]. — Evans B.S. : Analyst., 1929, *54*, 523.
[8 bis]. — Fauchon L. : Contribution à l'étude du dosage de l'antimoine et de quelques-unes de ses réactions - Thèse Pharmacie (Université), Marseille, 1937.
[9]. — Gros A. : Bull. Soc. Chim., 1941, *8*, 521.
[10]. — Haight G.P. : Anal. Chem., 1954, *26*, 593.
[11]. — Harispe J.V. : J. Pharm. Chim., 1939, *30*, 58.
[12]. — Jaulmes P. et Turpin A. : Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 1948, 7, 85.
[13]. — Jaulmes P., Mestres R. et Granier E. : Bull. Soc. Chim., 1959, *12*, 294.
[14]. — Kolthoff I.M. et Amdur R. : Ind. Eng. Chem., 1940, *12*, 177.
[15]. — Lespagnol A., Merville R. et Werquin : Bull. Soc. Chim., 1943, *10*, 378 - Bull. Soc. Chim. Biol., 1943, *25*, 322, et C.R. Soc. Biol., 1943, *137*, 520.
[16]. — Pharmacopoeia Internationalis : Masson et Cie éd., Paris, 1951, 1re édition, I, p. 308 et 316.
[17]. — Pluchon J. : Etude sur la séparation et le dosage volumétrique de l'arsenic - Thèse Pharmacie (Université), Marseille, 1936.
[18]. — Snell F.D. et Snell C.T. : Colorimetric methods of analysis - Van Nostrand Co Inc., éd., New-York, 1949, II, p. 183.
[19]. — Thiele J. : Liebig's Ann. d. Chem., 1891, *265*, 55.
[20]. — Thiuret J. : J. Pharm. Chim., 1939, *30*, 58.
[21]. — Vignoli L. et Cristau B. : Bull. Soc. Pharm. Marseille, 1956, *19*, 207, et 1957, *21*, 35.
[22]. — Vignoli L. et Cristau B. : J. Méd. Bordeaux, 1957, *5*, 607.

CONCLUSIONS

Nous pensons, à la fin de ce travail, avoir atteint le but que nous nous étions proposé.

Les méthodes que nous avons mises au point permettent **d'identifier l'arsenic** sans erreur possible et ne laissent la place à **aucune confusion avec l'antimoine :**

— La première, réalisant préalablement à la distillation de l'hydrure, l'isolement du toxique à l'état d'**arséniate ammoniaco-magnésien**, est rigoureusement spécifique de l'arsenic ; l'antimoine, en effet, ne précipite pas sous une forme analogue et reste dans la liqueur qui est rejetée. On obtient en définitive un polarogramme caractérisant l'arsenic par sa forme générale (deux vagues successives) et par la valeur des potentiels de demi-palier (— 0,43 et — 0,67 volt).

— La seconde permet d'obtenir sur un même diagramme l'empreinte des deux toxiques côte à côte : précédant les vagues fournies par la réduction du composé arsénieux, se trouve celle de l'antimoine dont le potentiel de demi-palier est situé à — 0,19 volt. Ce procédé permet d'arriver à un tel résultat grâce à l'isolement et à l'extraction simultanés des deux métalloïdes **à l'état de xanthates** arsénieux et antimonieux.

La précision de la première méthode est très satisfaisante : elle permet de retrouver en moyenne 91 % de l'arsenic présent dans les milieux biologiques analysés. **Celle de la seconde est légèrement inférieure :** nous n'avons retrouvé que 88 % des quantités mises en œuvre, que ce soit pour l'arsenic ou pour l'antimoine. Mais ce dernier est tout de même moins fréquemment présent dans les milieux soumis aux expertises et, pour lui, une erreur de quelques unités pour cent en plus ou en moins ne peut avoir de conséquences graves, autant sur le plan du diagnostic qu'au point de vue juridique.

Cependant, ces moyennes sont assez étroitement serrées par les chiffres que nous avons effectivement trouvés :

— pour le dosage de l'arsenic seul, par la première méthode, les plus grands écarts par rapport à la moyenne ne dépassent pas 3 % ;

— lorsqu'il s'agit de doser l'arsenic et l'antimoine en

mélange, les chiffres extrêmes ne s'écartent pas au-delà de 4 % de la moyenne pour le premier et de 6 % pour le second.

Nous pensons donc, si l'on estime nécessaire de connaître avec rigueur les quantités réellement présentes d'arsenic ou d'antimoine dans le milieu expertisé, que l'application aux résultats trouvés par l'une ou l'autre méthode, d'un coefficient d'analyse convenablement calculé, est parfaitement valable.

La sensibilité de nos procédés permet d'identifier les deux métalloïdes toxiques à des concentrations inférieures à **1 p.p.m.**, concentrations qui sont de l'ordre des plus minimes existant à l'état normal dans les milieux biologiques.

Enfin, si les méthodes classiques (Marsh, Cribier), convenablement appliquées, conservent toute leur valeur et ont sur les nôtres l'avantage de la simplicité de l'appareillage, nos procédés permettent, lors d'une expertise, d'ajouter aux pièces à conviction fournies par les premières, une nouvelle preuve irréfutable de la présence ou de l'absence du toxique : **les polarogrammes direct et dérivé avec leurs vagues et pics caractéristiques**.

Ce travail, en outre, ne veut être, au point de vue toxicologique, qu'une **application** du procédé polarographique aux **cas particuliers** de l'arsenic et de l'antimoine. Nous avons montré que cette méthode d'électro-analyse pouvait s'appliquer non seulement à l'arsenic isolé à l'état d'**hydrure volatil** et recueilli sur un papier réactif, mais encore lorsqu'on préfère utiliser son **insolubilisation à l'état métalloïdique** (procédé de Bougault). Nous pensons également que la méthode pourrait s'appliquer à la caractérisation (distinction avec l'antimoine) et au dosage du **miroir d'arsenic** formé dans un tube de Marsh. Enfin, il semble possible d'utiliser la polarographie pour **la plupart des métaux ou métalloïdes** au voisinage de ces éléments dans la classification périodique après isolement, selon leurs affinités respectives, à l'état d'hydrure volatil, de xanthate ou sous forme insoluble.

Lu et approuvé,
Le Président de Thèse :
L. VIGNOLI

Vu et approuvé,
Le Doyen :
G. MORIN

Vu et permis d'imprimer
Aix, le 11 juin 1960
Le Recteur :
J. BLACHE

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS 13

INTRODUCTION 15

CHAPITRE PREMIER. — Principales méthodes utilisant pour le dosage de l'arsenic la réduction en hydrure volatil et la combinaison de ce gaz à un réactif 17

Section I. — Généralités 17

A) Méthodes utilisant la fixation de l'arsine par un support réactif 18

B) Méthodes utilisant la transformation de l'arsine par contact avec un réactif en phase liquide.. 24

Section II. -- Méthode de Cribier 30

Section III. — Etude du mécanisme de la technique de Cribier d'après Griffon et Buisson 33

Section IV. — Théorie et applications expérimentales de Jaulmes et Rivemale 37

Section V. — Méthode de la Pharmacopée Internationale et méthodes anglo-saxonnes 42

A) Méthodes de la Pharmacopée Internationale et de la British Pharmacopoeia 42

B) Méthodes de l'A.O.A.C. et de la Pharmacopée américaine 43

BIBLIOGRAPHIE 46

CHAPITRE II. — Travaux antérieurs sur la polarographie de l'arsenic et de l'antimoine.

Section I. — La méthode polarographique 51

A) Théorie sommaire de l'électrolyse 52

B) Applications de l'électrolyse : relations entre le courant de diffusion et la concentration de la solution · Utilisation pour les dosages polarographiques 55

C) Le potentiel de demi-palier 59

D) Causes perturbatrices de la vague polarographique 60

E) Polarographie différentielle 62

F) Pratique de la méthode polarographique 63

Section II. — L'arsenic et l'antimoine en polarographie .. 67

A) Polarographie de l'arsenic 67

B) Polarographie de l'antimoine 68

C) Polarographie de l'arsenic et de l'antimoine réunis 68

Section III. — Travaux antérieurs sur les dosages polarographiques de l'arsenic et de l'antimoine susceptibles d'applications toxicologiques 69

A) Méthode Bambach 69

B) Méthode de Haight 71

C) Méthode de Vignoli et Cristau 72

BIBLIOGRAPHIE 75

CHAPITRE III. — Travaux personnels - Dosage polarographique de l'hydrogène arsénié. Etude critique des méthodes classiques de dosage de l'arsenic contenu dans les milieux biologiques. Mise au point d'une méthode personnelle 81

Section I. — Application de la méthode de Vignoli et Cristau aux milieux biologiques 81

A) Technique opératoire utilisant l'isolement de l'arsenic à l'état d'arséniate ammoniaco-magnésien 81

B) Discussion et justification expérimentale de la technique 88

C) Résultats 90

D) Rendements en arsenic obtenus par le procédé classique n'effectuant pas l'isolement préalable 91

Section II. — Etude polarographique des méthodes anglo-saxonnes et de la méthode de la Pharmacopée internationale 93

A) Technique opératoire 93

B) Résultats 95

C) Discussion et commentaires des résultats 97

Section III. — Exposé et résultats de notre méthode personnelle de dosage de l'arsenic 99

A) Etablissement de la méthode pour le dosage de l'arsenic à la valence +3 100

B) Etablissement de la méthode pour le dosage de l'arsenic pentavalent 104

Section IV. — Application à la Toxicologie : Recherche et dosage de l'arsenic contenu dans les milieux biologiques 112

A) Modifications apportées à la technique de minéralisation et d'isolement préalables 112

B) Discussion des modifications 114

C) Résultats 115

ANNEXE. — Etudes des diagrammes de diffraction des rayons X et analyse spectrographique des zinc « Prolabo pour Toxicologie » et « Merck pour usage judiciaire ». 117

A) Analyse cristalline par diffraction des rayons X 117

B) Analyse spectrographique 120

BIBLIOGRAPHIE 124

CHAPITRE IV. — Application de la méthode mise au point pour l'arsenic au dosage de l'antimoine seul ou mélangé au premier. 127

Section I. — Travaux antérieurs sur l'identification et le dosage de l'antimoine par transformation en stibine 127

Section II. — Travaux personnels - Etude du dégagement de l'hydrogène antimonié dans un générateur de Cribier 131

A) Discussion du procédé utilisé 131

B) Résultats obtenus - Discussion 131

Section III. — Travaux personnels - Dosage polarographique de l'antimoine seul ou en mélange avec l'arsenic après transformation en hydrures 135

A) Dosage de l'antimoine seul 135

B) Dosage de l'arsenic et de l'antimoine en mélange 137

Section IV. — Travaux personnels - Application à la Toxicologie : caractérisation et dosage de l'arsenic et de l'antimoine contenus dans les milieux biologiques sans isolement l'un de l'autre 142

A) Recherches préliminaires 142

B) Méthode de Klein et Vorhes 144

C) Procédé personnel 146

Section V. — Etude polarographique de la réaction entre l'hydrogène antimonié et le nitrate d'argent 159

A) Travaux antérieurs 159

B) Travaux personnels préliminaires 160

C) Détermination de la valence et évaluation de l'antimoine dans le précipité 161

D) Conclusions sur le mécanisme de la réaction .. 165

BIBLIOGRAPHIE 167

CHAPITRE V. — Discussion d'ensemble des résultats obtenus - Essai d'application du procédé polarographique à la technique de Bougault. Généralisation. 171

Section I. — Discussion comparative des méthodes précédemment étudiées 171

A) Méthodes de Cribier et méthodes des pharmacopées étrangères 171

B) Méthodes personnelles 174

Section II. — Avantages et inconvénients des méthodes personnelles proposées - Conditions d'emploi 178

A) Avantages et inconvénients 178

B) Conditions d'emploi des méthodes proposées 181

Section III. — Application de la méthode polarographique au dosage de l'arsenic insolubilisé par le procédé de Bougault. Généralisation à l'identification et au dosage de l'arsenic isolé par tous les procédés classiques 183

A) Application à la réaction de Bougault 183

B) Généralisation à toutes les méthodes réalisant l'isolement de l'arsenic ou de l'antimoine à partir de milieux biologiques 189

BIBLIOGRAPHIE 190

CONCLUSIONS 191